

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK MENGKUDU
(*Morinda citrifolia*) TERHADAP KADAR LIPID DAN
PERKEMBANGAN LESI ATEROSKLEROTIK PADA
AORTA ABDOMINALIS TIKUS WISTAR**

*(The Effects of Dietary Morinda Citrifolia Extract on The Lipid Serum Levels and The
Progression of Abdominal Aortic Atherosclerotic ' Lesions of Wistar)*

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIK
(A laboratory experimental study)



Tesis

**untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai derajat Sarjana S-2**

Magister Ilmu Biomedik

**Ika Kustiyah Oktaviyanti
G4A001015**

**PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
SEPTEMBER
2003**

UPT-PUSTAK-UNDIP

TESIS

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK MENKUDU (*Morinda citrifolia*) TERHADAP KADAR LIPID DAN PERKEMBANGAN LESI ATEROSKLEROTIK PADA AORTA ABDOMINALIS TIKUS WISTAR

(The Effects of Dietary Morinda Citrifolia Extract on The Lipid Serum Levels and The Progression of Abdominal Aortic Atherosclerotic Lesions of Wistar)

disusun oleh

Ika Kustiyah Oktaviyanti

G4A001015

telah dipertahankan di depan Tim Penguji

pada tanggal 18 September 2003

dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Komisi Pembimbing,

Pembimbing Utama

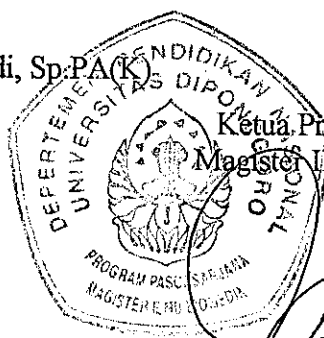


Prof. Dr. dr. Sarjadi, Sp. PA(K)

Pembimbing Kedua



dr. Pudjadi, SU



Prof. dr. Soebowo, Sp. PA(K)

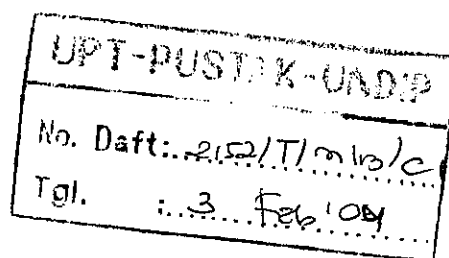
PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum/tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka

Semarang, 18 September 2003

Ika Kustiyah Oktaviyanti

G4A001015



RIWAYAT HIDUP

Nama : Ika Kustiyah Oktaviyanti
Jenis kelamin : perempuan
Tanggal lahir : 12 Oktober 1968
Tempat lahir : Banjarmasin, Indonesia
Kewarganegaraan : Indonesia
Status perkawinan : Menikah dengan Decky C.K. Lihu
Anak : Vicky Lihu (7 th) dan Andika Lihu (3 th)

ALAMAT

KANTOR : 1. Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat
Bagian Patologi Anatomi
Jl.A.Yani Km 36 Banjarbaru, Kal-Sel, Indonesia
2. Rumah Sakit Ulin
Jl.A.Yani Km 1 Banjarmasin, Kal-Sel, Indonesia

RUMAH : Komp. DPR no.45 Banjarmasin, KalSel, Indonesia
Telp (0511)64366

POSISI SEKARANG : Sebagai staf pengajar di Bagian Patologi Anatomi
Fakultas Kedokteran UNLAM (sejak th 1997)

RIWAYAT PENDIDIKAN :

Sekolah	Lokasi	Ijasah	Bidang Ilmu	Tahun
SDN Mulawarman	Banjarmasin	berijasah		1974-1981
SMP N 2	Banjarmasin	berijasah		1981-1984
SMA N 2	Banjarmasin	berijasah		1984-1987
FK UNDIP	Semarang	berijasah	Kedok Umum	1987-1994

PENGHARGAAN :

Pemenang Project Grant QUE Project Batch III Fakultas Kedokteran UNDIP
Tahun 2002/2003 (peneliti Utama)

RIWAYAT PEKERJAAN :

1. Dokter Umum di Puskesmas S.Parman Banjarmasin (sebagai Pegawai Tidak Tetap Depkes RI), Juli 1994-Juni 1997
2. Dokter di Klinik IDI Cabang Banjarmasin, 1997
3. Staf Pengajar di Fakultas Kedokteran, Bagian Patologi Anatomi, 1997 sampai sekarang

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR GAMBAR.....	iii
DAFTAR TABEL.....	iv
SINGKATAN.....	v
ABSTRAK	
DAFTAR LAMPIRAN	
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	
1.2. Permasalahan	
1.3. Tujuan Penelitian	
1.4. Manfaat Penelitian	
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1. Definisi Aterosklerotik	
2.2. Faktor Risiko Aterosklerotik	
2.3. Patogenesis Aterosklerotik	
2.4. Berbagai Tipe Lesi Aterosklerotik	
2.5. Penatalaksanaan Disfungsi Endotel dan Aterosklerosis	
2.6. Mengkudu	
BAB 3. KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....	23
3.1. Kerangka Teori	
3.2. Kerangka Konsep	
3.3. Hipotesis	
BAB 4. METODA PENELITIAN.....	25
4.1. Rancangan Penelitian	
4.2. Jenis dan Besar Sampel	
4.3. Kriteria Inklusi	

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa, atas berkat dan rahmatNya jualah, sehingga tesis ini dapat selesai dikerjakan.

Selama proses penyusunan tesis ini, Penulis telah menerima dukungan dan bantuan dari pembimbing, para guru besar, penguji, nara sumber, pimpinan, staf akademik dan administrasi serta mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, untuk itu Penulis mengucapkan terimakasih.

Penghargaan dan ungkapan terimakasih khusus kepada kedua pembimbing Prof.Dr.dr.Sarjadi,SpPA(K) dan dr.Pudjadi, SU, atas perhatian, bimbingan, arahan dan dorongan, serta waktu yang diberikan kepada Penulis, selama proses persiapan proposal, seminar, pelaksanaan penelitian dan ujian, sampai dengan akhir penulisan tesis ini.

Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada para penguji : Prof.DR.dr. Tjahjono, SpPA(K), dr.Parno Widjoyo SpFK, dan drg.Henry Setyawan MSc, atas pertanyaan, diskusi, kritikan dan saran perbaikan, sehingga tesis ini semakin berbobot. Serta kepada Prof.DR.dr.Ign.Riwanto,SpBD dan dr.Edi.Dharmana, PhD atas masukan dan saran dalam pembuatan proposal maupun tesis ini.

Ucapan banyak terimakasih Penulis tujukan kepada Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik pada Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro, Prof.dr Soebowo,SpPA(K), atas dorongan semangat, perhatian dan bantuan yang memacu penyelesaian tesis ini.

Rektor Universitas Lambung Mangkurat, Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat, Direktur Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro, dr.

Kasno, SpPA(K) (Ketua bagian Patologi Anatomi FK UNDIP), dr.Noor Yazid, SpPA(K) (Ketua Program Studi PPDS I bagian Patologi Anatomi FK UNDIP), terimakasih atas kesempatan studi, beasiswa dan fasilitas yang telah diberikan kepada Penulis.

Ungkapan terimakasih juga Penulis tujukan kepada Direktur Eksekutif Proyek QUE, yang telah memberikan kelonggaran waktu dan fasilitas selama Penulis menyelesaikan tesis ini.

Buat dr Udadi Sadhana M.Kes dan dr Awal Prasetyo M.Kes, terimakasih banyak atas bimbingan, dorongan, dan bantuannya selama pembuatan proposal, pelaksanaan penelitian sampai terselesaikannya tesis ini.

Untuk teman-teman mahasiswa PPDS I Patologi Anatomi dan karyawan Patologi Anatomi FK UNDIP terimakasih atas kepedulian dan kerjasamanya.

Natalia, Ricki, Adi dan Endro, mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, yang merelakan waktu luangnya untuk melakukan penelitian bersama dengan Penulis.

Akhirnya, terimakasih kepada suamiku Decky C.K.Lihu serta anak-anakku Mahesa Vicky S.R.Lihu dan Mahesa Andika A.Lihu, atas ketabahan, pengertian dan pengorbanan waktu kebersamaan kita.

Semoga Allah Swt memberikan rahmat dan hidayahNya, khususnya atas budi baik yang telah diberikan kepada Penulis

Semarang, 18 September 2003

Penulis

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Grafik boxplot kadar kolesterol total.....	34
Gambar 2. Grafik boxplot kadar kolesterol HDL.....	35
Gambar 3. Grafik boxplot kadar kolesterol LDL	37
Gambar 4. Grafik boxplot kadar trigliserida	38
Gambar 5. Penampang melintang aorta abdominalis tikus normal	39
Gambar 6. Struktur aorta abdominalis tikus normal.....	40
Gambar 7. Sel busa aorta abdominalis, induksi aterosklerotik 2 minggu	40
Gambar 8. Sel busa aorta abdominalis, induksi aterosklerotik 8 minggu	41
Gambar 9. Grafik Boxplot jumlah sel busa aorta abdominalis tikus.....	41
Gambar 10. Sel busa aorta abdominalis, pemberian mengkudu plus KT	42
Gambar 11. Sel busa aorta abdominalis, pemberian mengkudu tanpa KT	43
Gambar 12. Ketebalan dinding aorta, induksi aterosklerotik 8 minggu	43
Gambar 13. Grafik Boxplot prosentasi ketebalan dinding aorta	44

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Alur Penelitian	32
Tabel 2. Nilai Mean dan Median Variabel Pengukuran	33
Tabel 3. Uji Beda <i>Wilcoxon Rank Sum</i> antar Kelompok	48
Tabel 4. Uji Korelasi <i>Spearman</i>	49

SINGKATAN

PJPD	= penyakit jantung dan pembuluh darah
PJK	= penyakit jantung koroner
LDL	= <i>Low density lipoprotein</i>
ACE	= <i>Angiotensin-converting enzyme</i>
NO	= <i>Nitric oxide</i>
TNF- α	= <i>Tumor necrosis factor-α</i>
IL	= <i>Interleukin</i>
HDL	= <i>High-density lipoprotein</i>
PECAM 1	= <i>Platelet-endothelial-cell adhesion molecule 1</i>
ICAM 1	= <i>Intercellular adhesion molecule 1</i>
VCAM 1	= <i>Vascular-cell adhesion molecule 1</i>
LDL-oks	= LDL teroksidasi
GF	= <i>Growth Factor</i>
PDGF	= <i>Platelet derived growth factor</i>
BFGF	= <i>Basic fibroblast growth factor</i>
IGF	= <i>Insulin- like growth factor</i>
TGF- β	= <i>Transforming growth factor-β</i>
CSF	= <i>colony-stimulating factor</i>
EDRF	= <i>endothelium-derived relaxing factor</i>
EDCF	= <i>endothelium-derived contracting factor</i>
ET-1	= <i>endothelin-1</i>
Tx A	= <i>tromboxan A</i>
FGF 2	= <i>Fibroblast growth factor 2</i>
GMCSF	= <i>Granulocyte macrophage colony stimulating factor</i>
MCSF	= <i>Macrophage colony stimulating factor</i>
NOS	= <i>nitric oxide sintase oxygenase</i>
eNOS	= <i>Endothelial nitric oxide synthase</i>
KT	= kuning telur
MM-LDL	= <i>minimal oxidative LDL</i>

ABSTRACT

Background : *Morinda citrifolia* (Mc) which has been used for anti atherogenic agent, has no significant background, but there was only some empiric data and case study. This study was aimed to prove the effects of Mc to the serum lipid profile and inhibiting of abdominal aortic wall-thickness progression of Wistar.

Method : The randomized post-test control group was chosen as a research design. The object of the study was 28 Wistar, divided into 7 groups. All of the groups were treated differently. Group I treated with standard diet; Group II, III, IV, V, VI and VII injected by 0,006 mg adrenaline on the first day, followed by daily egg yolk dietary on the 2nd-14th days. Group IV, V, VI and VII followed by 50 mg/day Mc. On the day 15th groups I and II were terminated, otherwise group IV and VI were terminated on the day 36th and group III, V and VII were terminated on the day 57th. Each group was examined the lipid profile, foam cells and the thickness of abdominal aortic wall were measured. Data were analyzed by Univariate Analysis, Kruskal-Wallis and Man-Whitney test for differentiation, followed with Spearman correlations test.

Results: the study showed that mean of LDL in group III was the lowest (84.5 ± 15.34) than control and other treated group. The mean of foam cells in group VII was the lowest (23.5 ± 22.05), among other groups, and in group III was higher (135.75 ± 49.76) than other treated group. The mean percentages of the aortic wall thickness in group VII was the lowest (46.88 ± 18.75) among control and other treated group.

Conclusion : The Mc dietary had a slight decreasing effect of LDL and triglyceride, and increasing HDL in Hypercholesterolemic condition, The Mc dietary also decreased the foam cells and the abdominal aortic thickness of wistar. There was not significantly difference on lipid profile, foam cells and abdominal aortic thickness in 3 and 6 weeks of Mc extract administratio, but there are the trends of decreased on 6 weeks. There was significantly difference in total cholesterol, LDL, HDL in Mc extract dietary plus egg yolk group, compared to the group that had no egg yolk dietary, as well as there was any decreasing-trend in foam cell, and the abdominal aortic wall thickness.

Keyword : *Morinda citrifolia*, egg yolk, lipid profile, foam cells, abdominal aortic thickness

RINGKASAN

Latar belakang : Penggunaan mengkudu (*Morinda citrifolia*) untuk penghambatan aterogenesis lebih banyak berdasarkan pengalaman klinis maupun studi kasus, namun tidak ada data eksperimental ilmiah yang signifikan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian ekstrak mengkudu terhadap penurunan kadar lipid darah dan penghambatan perkembangan lesi aterosklerotik pada aorta abdominalis tikus Wistar.

Metode Penelitian : Desain penelitian ini adalah *Randomized Post-test Control Group*, 28 tikus jantan Wistar, 20 minggu, bobot badan antara 180-200 gram, sehat, aktivitas dan tingkah laku normal, diberi pakan standar AIN-93 M serta minum secara *ad libitum*, dibagi acak menjadi 7 kelompok. Tikus kelompok I (kontrol) hanya diberi pakan standar. Tikus kelompok II, III, IV, V, VI dan VII diinjeksi adrenalin bitatras 0,006 mg/200 gram BB i.v pada hari pertama, dilanjutkan diet 5 gram kuning telur (KT) per sonde/hari di hari ke-2 sampai ke-14 seperti metode Constantinides yang dimodifikasi. Tikus kelompok I dan II diterminasi pada hari ke-15. Kelompok III mendapat diet KT dan pakan standar sampai hari ke 56. Selanjutnya kelompok IV, V, VI dan VII mendapatkan ekstrak mengkudu dengan dosis 50mg lewat sonde lambung mulai hari ke-15. Tikus kelompok IV dan V diberi mengkudu, kuning telur dan diet standar sampai hari ke 35 untuk kelompok IV, serta sampai hari ke-56 untuk kelompok V. Sementara kelompok VI dan VII hanya mendapat mengkudu dan pakan standar tanpa kuning telur sampai hari ke-35 untuk kelompok VI dan sampai hari ke-56 untuk kelompok VII. Tikus diterminasi pada hari ke-36 untuk kelompok IV dan VI, serta hari ke-57 untuk kelompok III, V dan VII. Pada akhir penelitian, tikus didekapitasi dan dilakukan pemeriksaan; profil lipid (kolesterol total, LDL, HDL dan trigliserida) penghitungan jumlah sel busa; pengukuran ketebalan dinding aorta abdominalis yang diukur dengan *ocular micrometer*. Data diolah dengan menggunakan *SPSS for Windows Release 11.0*. Analisis *univariat* untuk menghitung *mean*. Dilakukan uji *Kruskal-Wallis* dan *Wilcoxon Runk Sum* antar kelompok serta uji korelasi *Spearman*

Hasil : Rata-rata kadar LDL kelompok III paling tinggi ($84,5 \pm 14,34$), dibandingkan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan lain. Uji beda kadar LDL dalam kelompok perlakuan $p=0,011$. Rata-rata jumlah sel busa kelompok VII $23,5 \pm 22,05$, paling rendah dibandingkan kelompok perlakuan lain. Jumlah sel busa kelompok III $135,75 \pm 49,76$ lebih tinggi dibanding kelompok perlakuan yang lain. Rata-rata prosentasi penebalan dinding aorta kelompok VII $46,88 \pm 18,75$, atau paling rendah dibandingkan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan lain.

Kesimpulan : Ekstrak mengkudu dapat menurunkan kadar LDL dan trigliserid, meningkatkan kadar HDL serum tikus wistar, serta dapat mengurangi jumlah sel busa dan menurunkan ketebalan dinding aorta abdominalis. Terdapat kecenderungan menurun pada profil lipid darah, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus wistar pada pemberian ekstrak mengkudu dengan jangka waktu 6 minggu dibanding 3 minggu. Terdapat perbedaan bermakna pada kadar kolesterol total, LDL dan HDL pada kelompok yang diberi mengkudu dengan kuning telur masih diberikan dibanding dengan kuning telur tidak diberikan lagi, serta terdapat kecenderungan menurun meskipun tidak didapatkan perbedaan bermakna terhadap jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta

Kata kunci : Mengkudu, kuning telur, profil lipid, sel busa, ketebalan dinding aorta

BAB 1.

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Penyakit jantung dan pembuluh darah (PJPD) merupakan penyebab kematian umat manusia yang utama. Menurut WHO (1990) kematian karena PJPD adalah 12 juta pertahun dan merupakan pembunuh nomer satu, dimana angka ini sangat jauh dibandingkan dengan kematian yang disebabkan diare (5juta), kanker 4,8 juta dan TBC 3 juta pertahun⁽¹⁾.

Penyakit Jantung Koroner (PJK) yang merupakan PJPD erat kaitannya dengan aterosklerosis, dimana 99 % penyebabnya karena aterosklerosis⁽²⁾, sehingga perlu mengatasi aterosklerosis ini agar insiden PJPD terutama PJK dapat dikurangi. Penanganan aterosklerosis merupakan salah satu prioritas *Public Health Service* (PHS) dalam mensukseskan kesehatan dan pencegahan penyakit dalam rangka Masyarakat Sehat 2010⁽³⁾.

Berbagai pengobatan untuk mencegah dan mengatasi aterosklerosis telah dikembangkan, termasuk pula penggunaan berbagai macam herbal. Salah satu herbal atau tanaman berkhasiat obat adalah mengkudu dengan nama latinnya *Morinda citrifolia*. Tanaman ini sudah dikenal dan digunakan sebagai tanaman obat sejak lebih dari 2000 tahun yang lalu di Polonesia, Cina, India, Indonesia dan daerah lainnya^(4,5).

Penelitian terhadap efek mengkudu lebih banyak berdasarkan pengalaman klinis maupun studi kasus, dengan dilaporkannya berbagai kasus penyakit yang dapat diatasi dengan mengkudu, termasuk hiperlipemi dan aterosklerosis^(4,5,6,7). Namun tidak ada data ilmiah yang signifikan untuk menunjang temuan klinis tersebut⁽⁸⁾.

Penelitian aterosklerosis sulit dilakukan pada manusia, oleh karena tidak dapat secara terus menerus mengikuti perubahan arteri, dan mengetahui kapan terjadinya plak aterosklerosis⁽⁹⁾. Adanya keterbatasan ini, maka penelitian tentang arterosklerosis banyak dilakukan dengan menggunakan hewan coba⁽¹⁰⁾. Adapun binatang yang digunakan adalah kelinci selama lebih dari 80 tahun. Karena berbagai kondisi dicari hewan lain yang lebih praktis, mudah mendapatkannya, dan kemampuan adaptasinya baik, terhadap berbagai perlakuan. Fazio S (2001) menyatakan tikus dapat memenuhi kriteria tersebut, dan dapat digunakan sebagai hewan coba untuk mempelajari aterosklerotik⁽¹¹⁾, disamping itu pola makan tikus yang termasuk hewan omnivora lebih mirip dengan manusia dibandingkan kelinci.

Aterosklerosis terjadi oleh karena adanya jejas pada endotel yang mengakibatkan disfungsi endotel. Penyebab utama terjadinya aterosklerosis ini adalah kadar kolesterol darah yang tinggi dalam pembuluh darah. Salah satu jenis kolesterol yaitu *Low Density Lipoprotein* (LDL) akan meningkat dengan tingginya kolesterol darah. LDL ini mudah mengalami oksidasi. LDL yang teroksidasi ini mudah menempel pada dinding pembuluh darah, dan menyebabkan jejas pada endotel. Jejas pada endotel lama kelamaan mengakibatkan terganggunya fungsi endotel atau yang disebut disfungsi endotel. Hal ini mengakibatkan lemak yang menempel pada dinding pembuluh darah dapat masuk melalui endotel ke dalam tunika intima pembuluh darah, kemudian difagosit oleh makrofag membentuk sel busa di intima pembuluh darah. ^(13,14)

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk melihat pengaruh diet kolesterol tinggi dengan kejadian aterosklerosis, baik dengan tambahan jejas lain maupun murni oleh karena diet tinggi kolesterol^(9,10,11,12,15,16). Deposit lemak akan dihasilkan bila hiperlipidemia

didahului jejas endotil lain, atau diinduksi hanya dengan hiperlipidemia saja, namun dalam waktu yang lebih lama.⁽⁹⁾

Menurut pendapat Constantinides (1994) injeksi inisial adrenalin *intra vena* (i.v) yang dilanjutkan asupan diet kuning telur *intermitten* pada kelinci dapat menghasilkan bercak ateroma dalam waktu 2 minggu⁽⁹⁾. Hal ini dibuktikan oleh Awal dkk. (2000) yang menyatakan bahwa injeksi inisial adrenalin i.v yang dilanjutkan dengan diet kuning telur *intermitten* pada tikus Wistar dapat meningkatkan kadar kolesterol total, LDL, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis⁽¹⁵⁾.

Pemberian adrenalin i.v ditujukan untuk menimbulkan stres pada tikus, selain juga untuk meningkatkan tekanan darah sistolik, yang dapat menimbulkan progresivitas aterosklerotik pembuluh darah. Everson et al (1997) mendukung fakta ini, dan melaporkan bahwa meningkatnya stres dan tekanan darah menampakkan aterosklerosis aorta yang lebih progresif dibandingkan orang dengan stresor yang lebih ringan⁽¹⁷⁾.

Jejas pada endotil akan mengakibatkan terjadinya perubahan di tingkat molekuler, yang pada tahap selanjutnya menghasilkan perubahan morfologik yang bisa diamati dengan mikroskop cahaya berupa infiltrasi monosit, adanya lipid dalam miosit dan monosit, disintegrasi *foam cell* (sel busa), timbunan masif lipid ekstrasel, destruksi elastin, proliferasi otot polos, sintesis kolagen masif, akumulasi asam mukopolisakarida, destruksi progresif media, angiogenesis, gambaran deposit kalsium, hemoragik intra plak, trombosis intra plak, dan organisasi trombus supra plak⁽⁹⁾. Adanya perubahan-perubahan tersebut mempengaruhi perubahan ketebalan dinding pembuluh darah^(13,18).

Disfungsi endotil dapat diperbaiki dengan cara menurunkan kadar lemak (kolesterol) darah dan pemberian antioksidan. Selain itu dapat pula diberikan terapi penghambat

angiotensin-converting enzyme (ACE) dan pemberian estrogen pada wanita yang sudah *menopause*, atau yang mempengaruhi jalur reaksi *L-arginine nitric oxide* (NO)⁽¹⁴⁾.

Mengkudu mengandung β -caroten dan *ascorbic acid* yang dapat berfungsi sebagai antioksidan. Mengkudu juga mengandung *L-arginine* sebagai bahan baku *nitric oxid* (NO) dan sebagai penurun kolesterol serum⁽¹⁹⁾. Selain itu mengkudu juga dapat merangsang sel untuk melepaskan mediator seperti *Transforming growth factor* (TNF)- α dan *interleukin* (IL)- 1β yang dapat menstimulasi pelepasan NO⁽²⁰⁾. Adanya kandungan antioksidan, *L-arginine* dan mediator yang dapat menstimulasi pelepasan NO dalam mengkudu, menyebabkan mengkudu diharapkan dapat menurunkan kolesterol serum dan dapat menghambat perkembangan lesi aterosklerosis lebih lanjut.

1. 2. Permasalahan

Manfaat buah mengkudu lebih banyak berdasarkan atas hasil pengamatan klinik, sedangkan penelitian laboratorik masih sangat kurang, demikian pula penelitian yang melihat pengaruh mengkudu terhadap penghambatan lesi aterosklerotik juga belum ada. Berdasarkan hal tersebut, maka dirumuskan permasalahan sebagai berikut;

- a. Apakah pemberian ekstrak mengkudu dapat merubah profil lipid, dan menghambat perkembangan lesi aterosklerotik pada aorta abdominalis tikus Wistar yang telah diinduksi dengan injeksi inisial adrenalin i.v dilanjutkan diit kuning telur (induksi aterosklerotik) ?
- b. Apakah lamanya pemberian ekstrak mengkudu berpengaruh terhadap kadar lipid dan lesi aterosklerotik aorta abdominalis tikus Wistar yang telah diinduksi aterosklerotik ?
- c. Apakah terdapat perbedaan profil lipid dan lesi aterosklerotik aorta abdominalis pada tikus

yang diberi ekstrak mengkudu, antara kelompok yang tetap mendapat diit tinggi kolesterol dengan kelompok tanpa diit tinggi kolesterol lagi?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak mengkudu terhadap profil lipid darah dan perkembangan lesi aterosklerotik pada aorta abdominalis tikus Wistar yang telah diinduksi aterosklerotik

1.3.2. Tujuan khusus

- a. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak mengkudu terhadap profil lipid, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus Wistar, yang telah diinduksi aterosklerotik
- b. Mengetahui pengaruh perbedaan lamanya pemberian ekstrak mengkudu terhadap profil lipid, jumlah sel busa, dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus Wistar, yang telah diinduksi aterosklerotik
- c. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak mengkudu terhadap profil lipid, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus Wistar, pada kelompok yang diberi mengkudu dan diit kuning telur berlanjut, dibanding yang hanya mendapat mengkudu saja (tanpa diit kuning telur).

1.4. Manfaat Penelitian

Memperjelas pengaruh pemberian ekstrak mengkudu pada profil lipid serum darah serta dinding aorta. Apabila terbukti jelas pengaruh mengkudu terhadap profil lipid darah dan lesi

aterosklerotik, maka hasil penelitian ini dapat sebagai dasar pertimbangan pemakaian mengkudu sebagai suplemen. Penelitian ini juga diharapkan dapat bermanfaat sebagai dasar penelitian selanjutnya tentang obat tradisional yang mempunyai khasiat yang sama.

BAB 2.

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Definisi Aterosklerosis

Aterosklerosis adalah penyakit akibat respon peradangan pada pembuluh darah (arteri besar dan menengah), bersifat multifaktorial, kronik progresif, yang ditandai dengan deposit masa kolagen dan lemak, disertai proliferasi miosit, yang menimbulkan penebalan dinding arteri, sehingga menyebabkan kekakuan dan kerapuhan arteri^(8,18,21-24).

2.2. Faktor Risiko Aterosklerosis

Aterosklerosis disebabkan oleh faktor genetik (herediter), penyakit dan lingkungan. Faktor herediter berpengaruh langsung pada struktur dinding arteri dan fungsinya. Secara tidak langsung melalui berbagai penyakit seperti hipertensi, hiperlipidemia, diabetes mellitus, obesitas, dan hiperhomosisteinemia^(13,25-29).

Pada kondisi hipertensi, terjadi ketidak-seimbangan faktor endotelial mikrovaskuler, dimana terjadi penurunan aktivitas NO dan peningkatan aktivitas endotelial yang menyebabkan tonus vaskuler meningkat dan hipertrofi medial, sehingga tahanan vaskuler sistemik meningkat. Kondisi ini menimbulkan lingkungan proaterosklerotik yang kondusif terhadap oksidasi LDL, adesi dan migrasi monosit, serta pembentukan sel busa pada arteri⁽³⁰⁾.

Hipertensi dapat disebabkan stres psikososial, dimana pada kondisi tersebut akan diproduksi hormon adrenalin dari medula adrenal. Pelepasan adrenalin akan mengaktifasi reseptor β -adrenergik. Dimana pada jantung, aktivasi reseptor β meningkatkan *influks* kalsium

ke dalam sel jantung menyebabkan meningkatnya denyut jantung yang berhubungan dengan peningkatan tekanan darah sistolik. Kondisi ini menyebabkan perubahan hemodinamik, sehingga menimbulkan jejas endotel yang merupakan awal aterosklerosis⁽²⁷⁾.

Sepuluh penderita dengan hiperhomosisteinemia meninggal pada usia muda oleh karena trombosis venosa atau aterosklerosis, hal itu diduga akibat peningkatan homosistein, yang menyebabkan kerusakan endotel, sehingga dapat menyebabkan aterosklerosis⁽¹⁴⁾.

Faktor lain sebagai faktor risiko terjadinya aterosklerosis meliputi; bahan kimia eksogen, infeksi virus, endotoksin bakteri, merokok, faktor imunitas dan mekanis^(13,25,28). Selain itu, aterosklerosis juga sangat dipengaruhi oleh gaya hidup dan kebiasaan makan makanan tinggi kolesterol⁽⁹⁾.

Populasi dengan hiperlipemia lebih banyak terkena aterosklerosis dibanding kelompok dengan kadar lipid rendah. Populasi dengan hiperlipemia ini lebih signifikan berhubungan dengan gejala aterosklerosis dan kematian oleh karena komplikasi aterosklerosis koroner. Tingginya kolesterol darah, trigliserida dan LDL berhubungan dengan stenosis koroner. Sementara kadar kolesterol *high-density lipoprotein* (HDL) berhubungan dengan menurunnya insiden penyakit aterosklerotik⁽⁹⁾, karena HDL dapat mengembalikan kolesterol dari jaringan untuk dimetabolisme di hepar⁽³¹⁾.

Kadar kolesterol LDL yang tinggi merupakan penjejas utama sel endotel dan miosit. Kolesterol LDL dapat mengalami oksidasi, agregasi, berikatan dengan proteoglikan atau menyatu dengan kompleks imun⁽²⁵⁾. Penderita yang secara genetik hiperlipoproteinemia dengan reseptor LDL tak sempurna ditandai dengan hiperkolestrolemi dan diabetes melitus, memiliki resiko terkena aterosklerosis yang berat. Namun hubungan antara beratnya aterosklerosis dengan kadar kolesterol belum jelas⁽³²⁾.

Schwenke (1989) membuktikan bahwa pemberian kolesterol pada kelinci sehat mengakibatkan meningkatnya konsentrasi dan kecepatan degradasi LDL di daerah aorta yang paling rentan mengalami lesi dini aterosklerosis. Pada penelitian tersebut dinyatakan bahwa pemberian diit 2% kolesterol selama 16 hari belum menimbulkan lesi yang kasat mata, tapi terlihat secara histologis dengan adanya sedikit sel busa. Setelah 16 hari diit kolesterol, konsentrasi LDL plasma kelinci meningkat 7,6 kali lipat, sementara di *lesion-prone site* aorta abdominalis lebih tinggi 2 sampai 5,7 kali lipat dibanding konsentrasi LDL di area aorta non percabangan⁽³³⁾.

Gambaran anatomis plak aterosklerotik biasanya terjadi pada arteri koroner, *bifurcation aorta*, aorta abdominalis, dan arteri femoralis⁽³⁴⁾. Hal tersebut selain berhubungan dengan aliran darah, juga dipengaruhi oleh viskositas cairan, diameter pembuluh darah, serta ketebalan dan distensibilitas pembuluh darah. Terdapat korelasi antara tempat terjadinya lesi aterosklerotik dengan daerah gangguan aliran darah akibat adanya turbulensi yang biasanya terletak di percabangan⁽³⁵⁾.

2. 3. Patogenesis Aterosklerosis

Berbagai teori aterogenesis telah berkembang, mulai dari teori infiltrasi lipid, teori trombogenik, teori sintesis lipid lokal, teori mutagenik dan teori respon terhadap jejas yang akhir-akhir ini dikenal sebagai teori proses peradangan^(9,18,21,25).

Ross (1999) menegaskan bahwa aterosklerosis merupakan penyakit peradangan (*inflammatory disease*) bukan semata akibat tingginya konsentrasi kolesterol plasma (khususnya LDL) yang berakumulasi dalam dinding arteri, namun merupakan serangkaian respon seluler dan molekul yang amat spesifik yang merupakan suatu proses peradangan⁽²⁵⁾.

Aterogenesis dimulai saat terjadi jejas pada endotel akibat berbagai faktor risiko dengan berbagai intensitas. Salah satu penjejas utama endotel adalah LDL plasma yang tinggi. LDL akan mengalami oksidasi dan mudah sekali menempel dan menumpuk pada dinding pembuluh darah, berupa deposit lipid. Penumpukan ini menyebabkan jejas pada endotel⁽¹³⁾.

Selain hiperkolesterolemia, jejas endotel juga disebabkan gangguan hemodinamik berupa *shear stress* dan aliran darah turbulen pada pembuluh darah (misalnya di area *bifurcatio*)⁽³²⁾. Di area ini, turbulensi yang tinggi menyebabkan jejas pada permukaan lateral endotel dan meningkatkan permeabilitas terhadap makromolekul. Hal ini terjadi akibat lapisan permukaan pembuluh darah, terus menerus terkena aliran, sehingga kehilangan efek elektronegatif lapisan asam sialat. Selain itu, aliran darah yang turbulen juga menyebabkan hilangnya *junction interendothelial*⁽⁹⁾.

Perubahan hemodinamik juga dapat disebabkan efek adrenalin, baik secara langsung pada pembuluh darah, maupun melalui efek hipertensinya⁽²⁷⁾. Adrenalin juga memiliki efek lipolisis, yaitu pemecahan lemak menjadi asam lemak dan gliserol⁽³⁶⁾. Susini et.al (1979), menyatakan bahwa respon lipolisis adrenalin jelas tampak pada tikus yang diberi makanan berlemak⁽³⁷⁾. Lipolisis menyebabkan kadar lipid darah meningkat, sehingga tingginya kadar lipid ini dapat menjadi pemicu terjadinya jejas endotel.

Pada keadaan terjejas, endotel normal akan menjadi endotel yang hiperpermeabel, yang ditunjukkan dengan terjadinya berbagai proses eksudasi (misalnya; protein, glukoprotein) dan infiltrasi monosit ke dalam lapisan pembuluh darah, akibat peningkatan adhesivitas terhadap lipoprotein, leukosit, platelet dan kandungan plasma lain⁽⁹⁾. Selain itu, endotel terjejas juga memiliki prokoagulan yang lebih banyak dibanding antikoagulan, serta mengalami pemacuan molekul adhesi leukosit seperti *L-selektin*, *integrin*, *platelet-endothelial-cell adhesion molecule*

(*PECAM*)-1 dan molekul adhesi endotel seperti *E*-selektin, *P*-selektin, *intracellular cell adhesion molecule* (*ICAM*-1) dan *vascular-cell adhesion molecule* (*VCAM*)-1⁽²³⁻²⁶⁾. Kondisi itu menyebabkan makromolekul lebih mudah menempel pada dinding pembuluh darah, sehingga mengakibatkan jejas pada endotel⁽⁹⁾.

Hiperpermeabilitas endotel secara ultrastruktur diperlihatkan dengan membukanya *junction interendothelial*, yang mengakibatkan masuknya lipoprotein terutama LDL teroksidasi (LDL-oks) melalui endotel ke intima. Miosit dan monosit pada kondisi tersebut memiliki aktivitas yang sangat pinositik, sehingga mampu menangkap lipoprotein tersebut, masuk ke dalam sel, sehingga memberikan gambaran lemak dalam miosit dan makrofag. Sel ini kemudian berubah menjadi *foam cell* atau sel busa dengan gambaran adanya vakuolisasi dalam sitoplasmanya⁽⁹⁾. Bertambahnya lipid yang masuk ke intima dan semakin menumpuk, lama kelamaan juga terjadi di ekstra seluler, sehingga memberikan gambaran masa amorf lipid di lapisan tersebut⁽¹³⁾.

Endotel dan miosit pada kondisi tak ada jejas (intak/utuh) memiliki *chalone*s yang berfungsi sebagai penghambat mitosis, yang apabila mengalami jejas akan kehilangan supresor mitosis secara lokal⁽⁹⁾, sehingga tidak ada penghambat mitosis. Hal tersebut menimbulkan pelepasan; faktor pengatur pertumbuhan atau *growth factor* (GF) oleh miosit sekitarnya sehingga berakibat proliferasi miosit, *platelet-derived growth factor* (PDGF), *basic fibroblast growth factor* (BFGF), *insulin-like growth factor* (IGF), *transforming growth factor- β* (TGF- β), *colony-stimulating factor* (CSF), IL-1 dan angiotensin-II⁽¹⁴⁾.

GF terutama PDGF merangsang proliferasi sel otot polos intima (sel miointimal) dan merangsang fibroblast mensintesis kolagen, elastin, dan mukopolisakarida, sehingga mengakibatkan plak ateroma pada keadaan lebih lanjut mengandung campuran makrofag,

limfosit, sel otot polos yang ditutupi oleh selapis jaringan fibrosa^(8,13).

Penderita dengan hipertensi sering mengalami peningkatan kadar angiotensin-II, yang merupakan vasokonstriktor penting dan dapat merangsang pertumbuhan otot polos. Angiotensin-II akan berikatan dengan reseptor spesifik miosit, menghasilkan aktivasi *fosfolipase C*, yang dapat meningkatkan konsentrasi kalsium intra seluler dan kontraksi miosit, meningkatkan sintesis protein dan hipertrofi miosit serta meningkatkan aktivitas lipoksigenase (yang dapat meningkatkan inflamasi dan oksidasi LDL)⁽²⁷⁾.

Bertambahnya migrasi dan proliferasi miosit yang saling bercampur dengan daerah yang mengalami inflamasi, akan semakin membentuk lesi intermedia. Selanjutnya, arteri akan mengalami *remodelling*, yaitu penebalan dan pelebaran dinding arteri bertahap sampai lumen pembuluh darah tidak dapat berdilatasi lagi^(22,24,25,35), sehingga memperparah disfungsi endotel⁽¹⁴⁾.

Disfungsi endotel didefinisikan sebagai ketidak-seimbangan antara faktor relaksasi dan kontraksi, antara mediator prokoagulan dan antikoagulan atau antara zat yang menghambat dan mendorong pertumbuhan⁽³⁸⁾. Disfungsi endotel ditandai oleh gangguan relaksasi yang tergantung endotel, baik karena berkurangnya produksi atau aktivitas *Endothelium-derived relaxing factor* (EDRF), maupun akibat lebih besarnya kecenderungan untuk menimbulkan kontraksi⁽³⁹⁾.

Disfungsi endotel merupakan tahap awal yang fundamental dalam perjalanan aterosklerosis. Mekanisme terpenting dalam penurunan respon endotel ialah berkurangnya pelepasan *nitric oxide* (NO) sebagai EDRF. Selanjutnya, dengan berlanjutnya penyakit dan semakin menebal dan kakunya arteri, maka makin sulit bagi NO untuk mencapai otot polos yang masih mampu berelaksasi⁽³⁹⁾.

Endotel yang tidak normal banyak melepaskan faktor kontraksi *endothelin-derived contracting factor* atau EDCF, meliputi *endothelin-1* (ET-1), prostanoide vasokonstriktor tromboksan A₂ (TXA) dan prostaglandin H₂, radikal bebas superoksida dan angiotensin-II lewat kerja *angiotensin-converting enzyme* (ACE)⁽¹⁴⁾. Semakin bertambahnya kerusakan endotel sampai terjadinya aterosklerosis, akan semakin memperberat kondisi disfungsi endotelnya.

2.4. Berbagai Tipe Lesi Aterosklerosis

Lesi aterosklerotik dibagi menjadi 6 tipe, yaitu;^(8,13,23,25)

a. Lesi aterosklerosis tipe I

Lesi ini disebut juga lesi inisial, karena merupakan perubahan paling dini yang pertamakali dapat dideteksi secara mikroskopik dan kimiawi. Secara histologi ditandai dengan sejumlah sel busa di tunika intima arteri dan adanya penebalan adaptif tunika intima

b. Lesi aterosklerosis tipe II

Lesi tipe II disebut juga *fatty streak* (garis lemak), karena secara mikroskopik terdiri atas sel busa berlapis, miosit berisi butiran lemak, sejumlah makrofag tanpa butiran lemak, sel limfosit T dan sel mast di tunika intima, disertai butiran heterogen lipid ekstra sel. Secara makroskopik (mata telanjang) kadang dapat terlihat berupa garis-garis, bercak-bercak atau bintik berwarna kuning di permukaan intima arteri, walaupun tidak selalu nampak secara makroskopik. Awalnya, garis lemak terdiri dari akumulasi sel busa, selanjutnya sel-sel tersebut bergabung dengan sel miosit. Tahapan pembentukan garis lemak meliputi; 1) migrasi miosit yang distimulasi oleh *PDGF*, *fibroblast growth*

factor (FGF)-2 dan *TGF- β* , 2) aktivasi sel T yang diperantarai oleh; *TNF- α* , *IL-2* dan *granulocyte macrophage colony stimulating factor (GM-CSF)*, 3) pembentukan sel busa yang diperantarai oleh; *LDL-oks*, *macrophage colony stimulating factor (M-CSF)*, *TNF- α* , *IL-1*, dan 4) aderensi dan agregasi platelet yang dirangsang oleh *integrin*, *P-selektin*, fibrin, tromboksan A2 serta faktor jaringan lain yang menyebabkan adhesi dan migrasi leukosit.

c. Lesi aterosklerosis tipe III

Lesi tipe ini disebut juga lesi intermedia, transisional atau preateroma. Secara mikroskopik ditandai adanya timbunan butiran dan partikel lipid ekstra sel di sekitar lapisan miosit yang mengalami penebalan tunika intima. Timbunan lipid lebih banyak dan tebal dan berada di bawah tumpukan makrofag dan sel busa. Timbunan lipid ini menggantikan matrik dan serabut proteoglikan intra sel, serta mendorong dan memisahkan miosit.

d. Lesi aterosklerosis tipe lanjut (IV,V,VI)

Lesi yang merupakan akumulasi lipid ekstra sel masif, yang menimbulkan disorganisasi, penebalan intima, deformitas dinding pembuluh darah dan sering disertai komplikasi fisura, hematoma dan trombosis.

Secara mikroskopik, ditandai adanya deposit lipid ekstra sel yang cukup besar sehingga dapat merusak intima. Pada stadium yang amat lanjut, deposit lipid memodifikasi tunika media dan adventisia di bawahnya.

2.5. Penatalaksanaan Disfungsi Endotel dan Aterosklerosis

Berbagai penelitian dilakukan untuk menguji strategi kemungkinan perbaikan fungsi

endotel arteri. Apabila strategi tersebut dapat diterapkan dini, masih mungkin untuk mencegah atau memperlambat aterosclerosis. Disfungsi endotel dapat diperbaiki pada subyek hiperkolesterolemia dengan cara menurunkan kadar lemak, baik dengan diet maupun obat penurun kolesterol⁽⁴¹⁾. Disfungsi endotel dapat pula diperbaiki dengan pemberian antioksidan, memperbaiki jalur reaksi *L-arginine* NO, dan pemberian estrogen pada wanita *postmenopause*. Pemberian penghambat ACE juga menunjukkan perbaikan fungsi endotel koroner pada pasien dengan aterosclerosis. Berbagai intervensi tersebut membuktikan bahwa disfungsi endotel masih bersifat reversibel⁽⁴²⁾.

2.5.1. Penurunan kadar kolesterol

Saat ini, teori tentang peningkatan kandungan lipid sebagai penyebab penting terjadinya aterosclerosis telah diketahui. Berbagai penelitian telah dilakukan guna menentukan apakah insiden aterosclerosis dan komplikasinya dapat dikurangi dengan menurunkan kadar lipid darah, terutama kolesterol LDL^(41,43).

Meskipun masih kontroversial, banyak fakta yang menyebutkan bahwa dengan memperbaiki hiperkolesterolemia, baik dengan diet maupun obat, dapat menurunkan mortalitas penyakit jantung koroner. Selain itu, penurunan kolesterol darah pada hewan coba menunjukkan terjadinya hambatan perkembangan lesi aterosklerotik lebih lanjut^(8,13,25,43). Salah satu studi aterosclerosis pada kelinci yang diberi diet kolesterol tinggi selama 4 bulan, menampakkan bahwa secara mikroskopis aorta kelinci mengandung banyak makrofag, namun setelah 16 bulan tanpa diet tinggi kolesterol, maka terjadilah penurunan kadar lipid dan makrofag hampir tak terdeteksi. Namun mekanisme seluler dan molekuler yang tepat pada kejadian tersebut belum diketahui⁽⁴¹⁾.

Penelitian lain menggunakan metode penurunan kolesterol dengan *HMG CoA*

reductase inhibitor, dan *LDL apheresis* ternyata dapat memperbaiki pembuluh darah normal maupun yang aterosklerotik, secara angiografi⁽⁴¹⁾. Selain *HMG CoA reductase inhibitor*, ternyata *L-arginine* dapat pula menurunkan kolesterol serum dengan potensi sekuat *HMG CoA reductase inhibitor* pada hewan coba⁽⁴⁴⁾. *L-arginine* adalah suatu asam amino yang dapat ditujukan untuk terapi aterosklerosis, PJK, hiperkolesterolemia, hipertensi, dan nefrosklerosis⁽⁴⁵⁾.

Penurunan kolesterol adalah faktor penting dalam penghambatan perkembangan plak, karena kolesterol dianggap sebagai faktor utama berkurangnya kejadian penyakit kardiovaskuler, pada berbagai uji klinis mutakhir⁽¹⁴⁾.

Kolesterol HDL berperan dalam mengembalikan transport kolesterol dan dipercaya memobilisasi lemak dari sel serta dari plak aterosklerosis dan membawanya ke hepar untuk dieksresikan ke dalam *vesica fellea*⁽³¹⁾.

2.5.2. Efek Antioksidan terhadap Aterosklerosis

Senyawa antioksidan adalah senyawa pemberi elektron yang dapat meredam dampak negatif oksidan, termasuk enzim dan protein pengikat logam. Antioksidan terbagi menjadi antioksidan pencegah (preventif) dan antioksidan pemutus rantai. Antioksidan pencegah bertujuan mencegah atau menghalangi terjadinya radikal hidroksil (misalnya; *transferrin*, *feritin*, *seruloplasmin*, *albumin*, *superoksida dismutase*, *glutation peroksidase*, *glutation* dan *sistein*). Antioksidan pemutus rantai berfungsi mencegah reaksi rantai berlanjut, dengan cara interaksi antar molekul dengan radikal bebas yang ada (misalnya; vitamin E, *ascorbic acid* (vitamin C), *β -carotene*, *glutation* dan *sistein*)⁽⁴⁶⁾.

Proses oksidatif, penting dalam terapi dan pencegahan aterosklerosis, sehingga suplementasi antioksidan dikemukakan sebagai terapi dan pencegah penyakit jantung.

koroner^(48,49,50).

Pemberian *probucol*, yang memiliki efek antioksidan, menghasilkan sekresi sitokin dan penurunan kolesterol. Penelitian memperlihatkan adanya proteksi terhadap risiko terkena aterosklerosis, dengan pemakaian vitamin E dan β -carotene dalam dosis besar, demikian juga pernah dilaporkan bahwa 50 persen penderita dengan arteri koroner yang mendapat β carotene, menunjukkan perbaikan⁽²⁸⁾.

Terapi dengan antioksidan saja, dapat menurunkan kadar HDL-2 (suatu komponen HDL), sedangkan pemberian antioksidan yang dikombinasi dengan agen penurun kolesterol dapat mencegah penyakit arteri koroner⁽⁵⁰⁾, sehingga diharapkan pemberian antioksidan lebih ditujukan pada penderita yang bukan dengan kadar HDL rendah.

2.5.3. Hubungan *Nitric Oxide* (NO) dengan Aterosklerosis

Endotel normal dapat menghasilkan gas NO yang terdiri dari molekul sederhana yang mengandung 1 atom N (nitrogen) dan 1 atom O (oksigen). Gas ini merupakan *messenger* penting dalam tubuh, antara lain berguna untuk mendilatasi pembuluh darah (sebagai EDRF), juga memelihara darah agar tidak menggumpal dan menempel pada dinding pembuluh darah. Selain itu, NO juga dapat melawan radikal bebas dan menghambat oksidasi kolesterol LDL^(51,52,53).

Pada keadaan aterosklerosis, dimana endotel tidak berfungsi dengan baik, maka produksi NO akan berkurang, sehingga menyebabkan pembuluh darah sulit berdilatasi. Platelet menjadi semakin mudah menempel dinding arteri yang sudah sklerotik, sehingga menambah berat lesi aterosklerotik^(14,52). Oleh karena itu, penambahan produksi NO sangat diperlukan untuk menghambat perkembangan lebih lanjut lesi aterosklerotik. Atas dasar itu, maka salah satu target obat baru dalam aterosklerosis adalah harus dapat menjaga dan memperbaiki jalur

perantara yang mengirim NO pada ateri⁽⁵³⁾.

NO tidak diatur melalui penyimpanan, pelepasan atau target degradasi, melainkan hanya oleh sintesis. NO dibentuk dari asam amino *L-arginine* melalui kerja *nitric oxide synthase oxygenase* (NOS), yang terdapat dalam beberapa isoform pada sel endotel, trombosit, makrofag, sel otot vaskular, saraf dan otak. NOS diaktifkan secara terus menerus oleh mekanisme yang tergantung kalsium (dapat di atur oleh; estrogen, mekanisme yang tidak tergantung kalsium), yang dapat diinduksi oleh sitokin (TNF dan IL-1b)⁽¹⁴⁾. Untuk mengaktifkan NOS, diperlukan TNF dan IL-1b, dan dapat pula dengan pemberian terapi estrogen pada wanita *postmenopause*⁽⁵⁴⁾.

Penelitian menunjukkan bahwa terapi estrogen dapat memperbaiki fungsi endotel pada wanita *postmenopause*, karena estrogen dapat merangsang NOS untuk mensintesis NO⁽⁵⁴⁾.

Ada beberapa kemungkinan penyebab berkurangnya NO pada lesi aterosklerotik, misalnya seperti; penurunan konsentrasi atau terganggunya pemanfaatan *L-arginine* sebagai bahan baku NO, terganggunya pelepasan NO dari sel endotel yang mengalami disfungsi akibat aterosklerosis, menurunnya konsentrasi atau aktivitas *i-* maupun *endotelial NOS (e-NOS)*, terganggunya difusi NO dari endotel ke sel otot polos vaskuler, meningkatnya degradasi lokal NO oleh karena meningkatnya produksi radikal bebas, dan terganggunya interaksi NO dengan *guanilat siklase* serta akibat terbatasnya produksi siklik GMP^(14,53).

Untuk memperbaiki jalur NO, diperlukan beberapa cara antara lain dengan pemberian *L-arginine*. Pemberian *L-arginine* secara parenteral berhubungan dengan perbaikan fungsi mikrovaskular koroner dan perifer, serta menunjukkan perbaikan dilatasi vaskuler setelah pemberian *L-arginine* selama 4 minggu⁽⁵⁵⁾. Pada orang sehat, pemberian *L-arginine* per oral memperlihatkan perbaikan agregasi monosit, namun tidak dapat memperbaiki fungsi endotel

koroner pada penderita dengan aterosklerosis lanjut. Pemberian *L-arginine* juga mengurangi ekspresi ICAM-1 pada sel yang dikultur⁽⁴⁴⁾.

2.5.4. Berbagai Bahan Lain yang Dapat Mempengaruhi Lesi Aterosklerotik

Beberapa terapi lain, misalnya; penghambat ACE (*ACE-Inhibitor/ACE-I*). ACE-I ini dapat meningkatkan vasodilatasi sehingga dapat memperbaiki disfungsi endotel. Terapi dengan ACE-I jangka panjang memperkuat stimulasi *L-arginine* NO, sehingga mempertahankan vasodilatasi, memperbaiki aliran darah dan menurunkan tahanan vaskuler perifer dan tekanan darah⁽⁵⁶⁾. Selain itu, ACE-I juga memperbaiki fungsi endotel dengan mengatur pembentukan superoksida, serta memperbaiki sistem fibrinolisis endogen dengan cara mencegah peningkatan aktivitas PAI-1 (yang diinduksi angiotensin-II), serta memperkuat rangsang sekresi tPA (yang diperantarai bradikinin). Pemberian nitrat dapat pula diberikan sebagai vasodilatator sebagai pengganti NO⁽⁴⁰⁾. Aktivasi trombosit, vasokonstriksi dan proliferasi sel otot polos vaskular, memerlukan kalsium intra sel pada proses intraselulernya sebagai mekanisme sinyal. Untuk menghambat aktifitas tersebut, diperlukan kalsium antagonis / penyekat kalsium. Salah satu efek pemberian penyekat kalsium ini dapat mengurangi respon proliferaatif sel otot polos vaskular. Pada beberapa studi angiografis, pemberian penyekat kalsium mengurangi pembentukan plak aterosklerosis baru⁽⁵⁶⁾.

2.6. Mengkudu

2.6.1. Morfologi dan Habitat

Mengkudu (pace) dikenal dengan nama ilmiah *Morinda citrifolia* termasuk keluarga *Rubiaceace*. Di kepulauan Hawaii dan sekitarnya dikenal dengan nama *Noni*. Tanaman mengkudu merupakan jenis pohon tropis yang dapat ditemukan di Australia, New Zealand,

Hawaii, Tahiti, India, Karibia, Indonesia, Malaysia dan Philipina^(57,58,59). Pohon mengkudu mencapai tinggi 4-8 meter. Batangnya berkayu, bulat, kasar, dengan daun tunggal berwarna hijau. Bunganya berwarna putih, majemuk. Buah mengkudu berbenjol-benjol, permukaan tidak teratur, panjang 5-10 cm. Bila masih muda buah berwarna hijau, semakin tua menjadi kekuningan dan berbau tidak sedap. Biji mengkudu berbentuk segitiga, keras, coklat kemerahan. Akar mengkudu berwarna coklat kehitaman dan lapisan bagian dalam berupa jaringan kayu yang berwarna agak kuning, berjenis akat tunggang. Batang berwarna coklat dengan dahan yang kaku kasar. Pada umumnya tanaman ini tumbuh liar di pantai, ladang, hutan, di pinggir-pinggir jalan atau sengaja ditanam orang di pekarangan rumah sebagai tanaman sayur dan obat⁽¹⁹⁾.

2.6.2. Kandungan Tanaman Mengkudu

Zat-zat penting yang dikandung pada setiap bagian tanaman mengkudu, antara lain;⁽¹⁹⁾

- 1) akarnya, mengandung; *alizarin, chlororubin, damnacanthal, hexose, morindadiol, morindanigrine, morindine, morindone, mucilaginous matter, nordamna-canthal, pentose, rubiadine, soranjidiol, sterols, antraquinone, glycoside*, 2) buahnya, mengandung; *1-butanol, 1-hexanol, glycoside, asam asetat, asam benzoat, alkohol benzol, asam butanoit, asam kaprit, asam kaproit, asam kaprilik, asam dekanoit, asam elaidik, ethyl decanoate, ethyl hexanoate, ethyl octanoate, ethyl palmitate, eugenol, glucosa, asam heptanoic, hexanal, hexanamide, asam lenoleic, polisakarida, potassium, scopoletin, selenium, sodium, xeronine, asam asperulosidic, asam askorbat, calcium, L-arginine, iron, niacin, thiamin, β carotene, alanine*, 3) daunnya, mengandung; *asam askorbat, calcium, L-arginine, iron, niacin, thiamin, β -carotene, alanine, asam aspartic, citrifolinoside A, cystein, cystine, asam glutamic, glysin, histidin, isoleusin, leusin, methionin, phenylalanin, prolin, riboflavin, serine, threonin*,

tryptofan, valin, β -sitosterol.

2.6.3. Kegunaan Buah Mengkudu

Tanaman mengkudu dikenal juga sebagai *Magic plant*, karena dipercaya dapat mengobati berbagai macam penyakit. Dr. Solomon (1998) mendukung pernyataan tersebut dan menguji efek mengkudu terhadap 10.000 penderita berbagai penyakit dan sukarelawan dengan bekerjasama dengan 50 orang dokter^(4,7).

Berdasarkan pengalaman klinik, berbagai penyakit dapat diatasi dengan mengkudu, antara lain; *diabetes mellitus*, hipertensi, obesitas, stroke, insomnia, penyakit jantung, aterosklerosis, ulkus gaster dan duodenum, kanker dan lain-lain^(4,6,7,19,59).

Bagian-bagian tanaman mengkudu yang memiliki efek farmakologis yaitu; akar, daun dan buah. Efek farmakologis produk akar mengkudu meliputi; *damnacanthal* yang dapat menstimulasi *apoptosis*. Pada dosis tinggi, ekstrak akar mengkudu dapat menginduksi waktu tidur. *Citrifolinoside* yang dikandung dalam daun mengkudu mempunyai efek menghambat aktivitas protein aktivator pada kultur sel, dan berefek anti cacing (*Ascaris lumbricoides*). Akar dan daun mengkudu mengandung protein yang masing-masing mengandung asam amino esensial^(5,19). Buah mengkudu merupakan bagian yang paling banyak dipilih untuk pengobatan, antara lain dapat digunakan untuk mencegah perkembangan kanker pada tahap awal (dengan mencegah perlekatan DMBA-DNA/DNA karsinogen) (Wan MY dkk,2001). Hirazumi dan Furusawa menyatakan buah mengkudu mengandung substansi kaya polisakarida yang berefek anti tumor dalam model *Lewis lung peritoneal carcinomatosis* (LCC)⁽⁶⁰⁾. Hirazumi juga melaporkan bahwa buah mengkudu mampu menstimulasi pelepasan beberapa mediator seperti *TNF- α* , *IL-1b*, *IL-10*, *IL-12p70*, *interferon gamma* dan *NO*⁽²⁰⁾. Buah mengkudu juga mengandung *L-arginine* sebagai bahan baku *NO*⁽¹⁹⁾. Adanya *L-arginine*,

TNF- α dan IL-1b yang dapat menstimuli kerja NOS, menyebabkan perbaikan jalur *L-arginine* NO. *L-arginine* selain berfungsi untuk NO, juga dapat menurunkan kolesterol sekuat *HMG CoA reductase*⁽⁴⁴⁾.

Burke melaporkan bahwa mengkudu juga dapat merangsang sel endotel *invitro* untuk melepaskan NO, yaitu suatu zat yang sangat penting untuk tubuh dan kesehatan karena dapat melawan radikal bebas, dan mencegah penempelan platelet serta menyebabkan dilatasi pembuluh darah^(5,6,7).

Secara kimiawi, mengkudu mengandung berbagai asam organik, berbagai vitamin (*beta-carotene, niacin, riboflavin, thiamine, ascorbic acid*), beberapa mineral, besi dan kalsium^(19,55). Vitamin dapat berperan sebagai antioksidan yang dapat mencegah dan mengatasi oksidasi lipid, sehingga diharapkan dapat mengurangi progresifitas aterosklerosis⁽⁵⁰⁾.

Efek terapi tanaman mengkudu juga dapat berasal dari buah, bunga, daun maupun akarnya^(6,19,58).

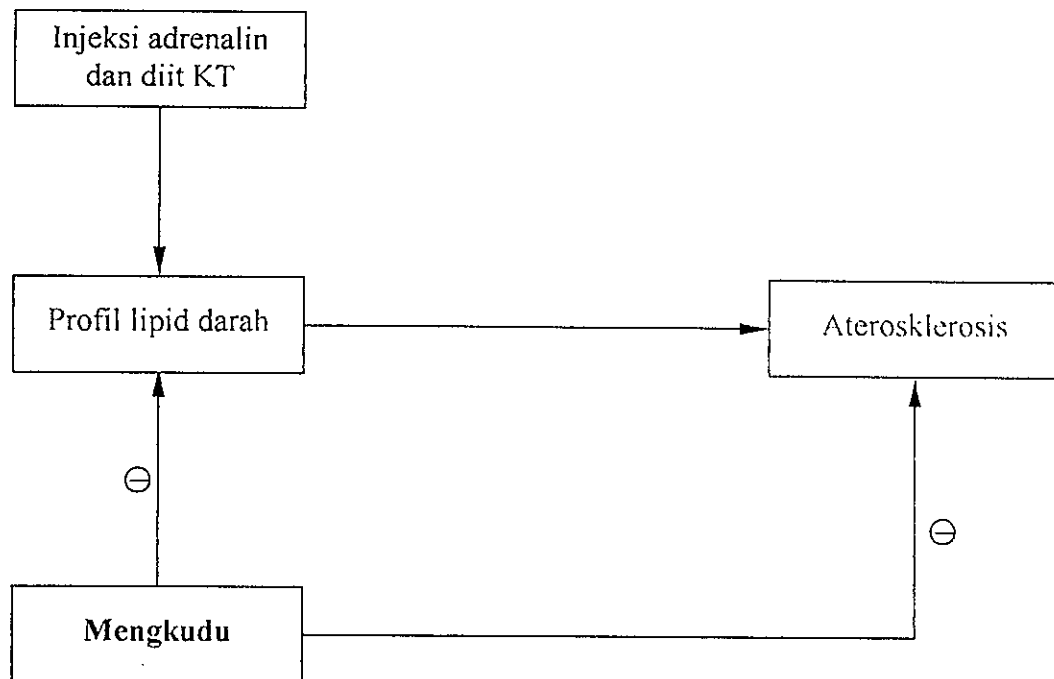
KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

The flowchart illustrates the pathogenesis of atherosclerosis, showing the interplay between various factors and their effects on the endothelium and blood vessels.

Key Components and Pathways:

- Lipid Metabolism:**
 - Intake kolesterol** leads to **Hiperkolesterolemia**.
 - HMG CoA – reduktase inhibitor** leads to **Hipokolestemik**.
 - Hiperkolesterolemia** and **Hipokolestemik** are linked by a bidirectional arrow with a minus sign (⊖).
 - Hiperkolesterolemia** leads to **LDL** and **HDL**.
 - HDL** has a negative effect (⊖) on **LDL**.
 - LDL** leads to **Jejas endotel**.
 - Lipolisis** is influenced by **Hipokolestemik** and **adrenalin**.
 - adrenalin** leads to **β-adrenergik**, which leads to **Hipertensi**.
 - Hipertensi** leads to **Perubahan hemodinamik**.
 - Perubahan hemodinamik** leads to **Jejas endotel** and **Disfungsi endotel**.
- Inflammation and Antioxidants:**
 - MENGKUDU** (a traditional Indonesian medicine) leads to **L-arginin**, **IL-1 TNF**, and **β-carotene vitamin C**.
 - IL-1 TNF** leads to **NOS**.
 - β-carotene vitamin C** leads to **esterogen**.
 - esterogen** leads to **NOS**.
 - NOS** leads to **NO**.
 - L-arginin** leads to **NO**.
 - NO** has a negative effect (⊖) on **Disfungsi endotel**.
 - Disfungsi endotel** leads to **Aterosklerosis**.
 - Aterosklerosis** leads to **Disfungsi endotel**.
 - Disfungsi endotel** leads to **ACE** and **superoksida**.
 - ACE** leads to **ACE-I**.
 - ACE-I** has a negative effect (⊖) on **ACE**.
 - superoksida** leads to **Anti oksidan**.
 - Anti oksidan** has a negative effect (⊖) on **superoksida**.
- Endothelial Damage and Other Factors:**
 - Jejas endotel** leads to **Disfungsi endotel**.
 - Disfungsi endotel** leads to **Jejas endotel**.
 - Disfungsi endotel** leads to **ACE** and **superoksida**.
 - ACE** leads to **ACE-I**.
 - ACE-I** has a negative effect (⊖) on **ACE**.
 - superoksida** leads to **Anti oksidan**.
 - Anti oksidan** has a negative effect (⊖) on **superoksida**.
 - Disfungsi endotel** leads to **Aterosklerosis**.
 - Aterosklerosis** leads to **Disfungsi endotel**.
 - Disfungsi endotel** leads to **ACE** and **superoksida**.
 - ACE** leads to **ACE-I**.
 - ACE-I** has a negative effect (⊖) on **ACE**.
 - superoksida** leads to **Anti oksidan**.
 - Anti oksidan** has a negative effect (⊖) on **superoksida**.
- External Factors:**
 - Virus**, **Homosistein**, **Angiotensin**, **Endotoksin**, **Nikotin**, and **Mekanik** all lead to **Jejas endotel**.

3.2. Kerangka Konsep



3.3. Hipotesis

- 3.3.1. Pemberian mengkudu pada tikus Wistar yang sebelumnya sudah diinduksi injeksi inisial adrenalin dan diberi diit kuning telur, dapat menurunkan profil lipid dan menghambat perkembangan lesi aterosklerotik.
- 3.3.2. Terdapat perbedaan profil lipid, dan lesi aterosklerotik aorta abdominalis tikus Wistar pada pemberian ekstrak mengkudu dengan jangka waktu berbeda.
- 3.3.3. Ada perbedaan profil lipid, dan perkembangan lesi aterosklerotik pada kelompok yang diberi mengkudu plus diit kuning telur dengan kelompok yang hanya mendapat mengkudu (tanpa diit kuning telur).

BAB 4.

METODA PENELITIAN

4.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan *Randomized Post-test control group*, menggunakan dua kelompok, yaitu; kelompok eksperimental dan kelompok kontrol, dengan randomisasi sederhana. Penilaian dilakukan hanya pada *post test*, dengan membandingkan hasil observasi pada kelompok eksperimental dan kontrol.

4.2. Jenis dan Besar Sampel.

Penentuan besar sampel menurut rumus Federrer, yaitu: $(t-1)(n-1) > 15$, dimana (t) adalah kelompok perlakuan, dan (n) adalah jumlah sampel perkelompok perlakuan. Tikus Wistar dibagi dalam 7 kelompok, yaitu 1 kelompok kontrol, 2 kelompok kontrol perlakuan, dan 4 kelompok perlakuan. Sehingga didapat jumlah sampel minimal 4 ekor tikus per kelompok.

4.3. Kriteria Inklusi

- a. Berat tubuh 180-200 gram pada umur 20 minggu
- b. Kondisi sehat

4.4. Kriteria *Drop-out*

- a. Tikus mengalami diare selama masa penelitian yang ditandai dengan feses tidak berbentuk.
- b. Tikus mati selama perlakuan berlangsung

UPT-PUSTAK-UNDIP

4.5. Kriteria Ekslusi

Bila pada otopsi ditemukan kelainan bawaan yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan.

Bila ada tikus yang drop-out, diganti dengan tikus lain sesuai kriteria inklusi, sehingga didapat jumlah tikus sesuai yang diinginkan.

4.6. Variabel Penelitian

4.6.1. Klasifikasi Variabel

- a. Variabel bebas; variabel bebas dalam penelitian ini adalah diit kuning telur dan pemberian ekstrak mengkudu.
- b. Variabel tergantung; variabel tergantung pada penelitian ini adalah profil lipid darah (kolesterol total, LDL, HDL, trigliserida), jumlah sel busa dan ketebalan aorta abdominalis.

4.6.2. Definisi Operasional

- a. Diit kuning telur adalah pemberian 5 gr kuning telur lewat sonde lambung setiap hari, sesuai dengan metode constantinides yang dimodifikasi. Skala nominal
- b. Injeksi inisial adrenalin i.v adalah satu kali injeksi adrenalin bitatras di awal perlakuan secara intra vena, lewat vena di ekor tikus, dengan dosis 0,006 mg, skala nominal.
- c. Pemberian mengkudu adalah pemberian 50 mg ekstrak mengkudu lewat sonde lambung setiap hari, dosis didapatkan berdasarkan dosis lazim manusia yang dikonversikan pada tikus, dan telah disesuaikan dengan hasil penelitian pendahuluan, skala nominal.
- d. Profil lipid adalah kadar kolesterol total, LDL, HDL, dan tigliserida serum darah, yang diukur secara enzimatik dengan spektrofotometer, skala rasio.

- e. Jumlah sel busa adalah hitung sel busa di tunika intima secara kuantitatif pada potongan melintang aorta abdominalis setebal 5 mikron dengan metode potong beku yang dipulas dengan pengecatan khusus *Sudan Black*, skala rasio.
- f. Ketebalan dinding aorta abdominalis, adalah pengukuran ketebalan aorta pada potongan penampang melintang, dari tunika intima sampai tunika media, dengan satuan ukuran mikron, kemudian dilihat berapa persen penebalan di 8 zona (pulasan dengan HE, pengukuran dengan okular mikrometer), skala rasio.

4.7. Alat, Bahan, dan Cara Pemeriksaan

4.7.1. Alat

- a. Untuk pemeliharaan dan pemberian perlakuan adalah kandang hewan dan sonde lambung.
- b. Untuk pemeriksaan kadar lipid adalah spektrofotometer Metertex, *sentrifuge*, tabung reaksi, pipet *ependorf*, pipet hematokrit.
- c. Untuk pembuatan sediaan histopatologi ialah inkubator suhu 56°C, mikrotom, kaca obyek dan kaca penutup dan mikrotom potong beku.

4.7.2. Bahan

- a. Hewan coba berupa tikus jantan galur Wistar, dari Pusat Pemeliharaan Hewan Percobaan UGM, memenuhi kriteria inklusi, mendapat pakan standar AIN-93 M dan minum secara *ad libitum*.
- b. Bahan perlakuan berupa; kuning telur yang dipisahkan dari putihnya, dibuat emulsi dengan cara mengocok perlahan, adrenalin bitatras injeksi, ekstrak mengkudu diperoleh dari perusahaan jamu yang didapat dengan cara perkoliase, yaitu buah

mengkudu masak dimasukkan dalam wadah dengan tekanan tertentu pada suhu 50°C.

- c. Untuk pemeriksaan histopatologi berupa; formalin *buffer* 10%, alkohol 30%, 50%, 70%, 80%, 90%, alkohol absolut, larutan *xylol*, *paraffin* cair (*histoplates*), albumin, polilisin, bahan pulasan HE, balsam *Canada* dan *etelan*.
- d. Bahan pemeriksaan potong beku, dan bahan pulasan *Sudan Black*.

4.8. Cara Kerja

Injeksi adrenalin i.v dilakukan dengan cara memasukkan tikus ke dalam kotak berlubang, sehingga ekornya bisa ditarik keluar. Ekor tikus dikompres dengan kapas yang dibasahi air hangat selama 5 menit sampai terjadi dilatasi vena. Setelah itu dilakukan injeksi vena dengan kemiringan 15 derajat secara perlahan. Dosis adrenalin didapat dengan menggunakan konversi perhitungan dosis tikus 0,018, sehingga didapatkan dosis 0,006 mg. Injeksi dilakukan sekali pada awal perlakuan.

Teknik pemeriksaan dan penghitungan kadar lipid dengan cara; 1) mengambil darah dengan tabung mikrohematokrit lewat *plexus retro-orbitalis* sebanyak 0,5 sampai 1,0 cc, 2) pemeriksaan enzimatik dengan metode GPO-PAP untuk pengukuran kadar trigliserida, metoda CHOD-PAP untuk pengukuran kadar kolesterol total, HDL, dan LDL, 3) penentuan intensitas kadar lipid secara fotometrik.

Teknik penghitungan sel busa dan pengukuran ketebalan aorta abdominalis dengan cara; 1) tikus didekapitasi, 2) mengambil aorta abdominalis sepanjang 5 cm (dibawah *arteri renalis* sampai percabangan *arteri iliaca* termasuk *bifurcatio aorta*), 3) untuk menghitung sel busa, potongan aorta abdominalis dilakukan potong beku dengan *cryostat* dan dipotong setebal 4 mikron, diletakkan di atas kaca obyek dan dipulas dengan *Sudan Black*, ditutup dengan kaca

penutup. Sel busa dilihat di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000x, dihitung jumlah sel busa di tunika intima dan media pada penampang melintang aorta, 4) untuk mengukur ketebalan aorta abdominalis ditentukan dengan cara; jaringan difiksasi dalam larutan formalin *buffer* 10% selama 18-24 jam, selanjutnya dimasukkan dalam larutan *aquades* selama 1 jam untuk menghilangkan larutan fiksasi. Kemudian dilakukan dehidrasi dengan larutan alkohol bertingkat dari konsentrasi terkecil sampai terbesar. Selanjutnya dimasukkan dalam larutan alkohol-*xylol* selama 1 jam, dan *xylol* murni selama dua kali dua jam. Setelah itu jaringan dimasukkan dalam *paraffin* cair selama 2 kali 2 jam untuk impregnasi. Kemudian dilakukan *embedding* dalam *paraffin* cair yang diikuti pendinginan sampai memadat dan terbentuk blok *paraffin*. Jaringan dalam blok *paraffin* dipotong dengan menggunakan mikrotom setebal 4 mikron. Potongan diletakkan di atas kaca obyek yang sebelumnya telah diolesi polilisin. Pencairan dan pembuangan *paraffin* dari potongan sediaan dilakukan dengan pemanasan dalam inkubator. Setelah bersih dilakukan pulasan HE, kemudian diberi balsam *Canada* dan ditutup dengan kaca penutup. Ketebalan aorta abdominalis diukur di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x, 5) ketebalan aorta diukur dari tunika intima sampai media pada 8 zona (jam 12.00, 13.30, 15.00, 16.30, 18.00, 19.30, 21.00, 22.30), cara penghitungannya yaitu (jumlah skala : 400) x 1000 mikron, atau jumlah skala x 2,5 mikron, ketebalan aorta dikonversi dalam prosen (dengan membandingkan ukuran ketebalan aorta dengan kelompok kontrol), dengan terlebih dulu mengukur ketebalan aorta pada kelompok kontrol, menghitung nilai mean dan SD, untuk mendapatkan nilai ketebalan normal. Bila lebih dari normal, disebut dinding menebal. Pengukuran ketebalan aorta dilakukan pada 8 zona, dan dihitung berapa prosen bagian yang menebal (pada penampang melintang aorta).

4.9. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini berlangsung selama 8 minggu. Pemeliharaan hewan coba dan pemberian diit kuning telur dan ekstrak mengkudu dilakukan di Unit Pemeliharaan Hewan Percobaan UGM, Yogyakarta. Pengukuran kadar lipid, jumlah sel busa dan ketebalan aorta dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi FK-UNDIP.

4.10. Cara Pengumpulan Data

- a. Kelompok I (kontrol) diberi pakan standar selama 2 minggu.
- b. Kelompok II (kontrol perlakuan II), diinjeksi adrenalin i.v pada hari pertama, selanjutnya diberi diit kuning telur (KT) dan pakan standar tiap hari selama 2 minggu.
- c. Kelompok III (kontrol perlakuan III), diinjeksi adrenalin i.v hari pertama, selanjutnya diit KT dan pakan standar selama 8 minggu.
- d. Kelompok IV (mengkudu plus KT 3 minggu), diinjeksi adrenalin i.v hari pertama, hari berikutnya diberi KT dan pakan standar 2 minggu, kemudian diberi mengkudu, KT dan pakan standar selama 3 minggu kemudian.
- e. Kelompok V (mengkudu plus KT 6 minggu), diinjeksi adrenalin hari pertama, selanjutnya diberi diit KT dan pakan standar 2 minggu, kemudian diberi mengkudu, KT dan pakan standar 6 minggu kemudian.
- f. Kelompok VI (mengkudu tanpa KT 3 minggu), diinjeksi adrenalin i.v hari pertama, selanjutnya diit KT dan pakan standar 2 minggu, kemudian diberi mengkudu dan pakan standar selama 3 minggu kemudian.
- g. Kelompok VII (mengkudu tanpa KT 6 minggu), diinjeksi adrenalin i.v hari pertama, selanjutnya diit KT dan pakan standar 2 minggu, kemudian diberi mengkudu dan pakan standar selama 6 minggu kemudian.

Penjelasan :

- a. **Kelompok I** merupakan kontrol, untuk melihat gambaran normal.
- b. **Kelompok II dan III** merupakan kelompok kontrol perlakuan pemberian mengkudu, dengan melihat gambaran aterosklerosis yang diakibatkan pemberian injeksi inisial adrenalin iv dan diet tinggi kolesterol.
- c. Bila **kelompok II** dibandingkan dengan **kelompok IV dan kelompok VI**, serta **kelompok III** dengan **kelompok V dan VII**, diharapkan dapat mencapai tujuan khusus pertama penelitian ini
- d. Bila **kelompok IV** dibandingkan dengan **kelompok V**, dan **kelompok VI** dengan **kelompok VII** dimaksudkan untuk mencapai tujuan khusus kedua.
- e. Bila **kelompok IV** dibandingkan dengan **kelompok VI**, serta **kelompok V** dibandingkan dengan **kelompok VII**, dimaksudkan untuk mencapai tujuan khusus ketiga .

4.11 Alur penelitian-tabel 1

32

28 Ekor tikus jantan Wistar umur 20 minggu

Randomisasi

Hari ke	Kelompok 1 4 ekor tikus	Kelompok 2 4 ekor tikus	Kelompok 3 4 ekor tikus	Kelompok 4 4 ekor tikus	Kelompok 5 4 ekor tikus	Kelompok 6 4 ekor tikus	Kelompok 7 4 ekor tikus
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							
14							
15							
16							
17							
18							
19							
20							
21							
22							
23							
24							
25							
26							
27							
28							
29							
30							
31							
32							
33							
34							
35							
36							
37							
38							
39							
40							
41							
42							
43							
44							
45							
46							
47							
48							
49							
50							
51							
52							
53							
54							
55							
56							
57							

□ : diet standar

◻ : diet kuning telur, diet standar

◼ : injeksi inisial adrenalin

■ : dekapitasi 4 ekor tikus

▨ : diet kuning telur, mengkudu, diet standar

◼ : mengkudu dan diet standar

BAB 5.

HASIL PENELITIAN

5.1. Analisis Deskriptif Kadar Lipid

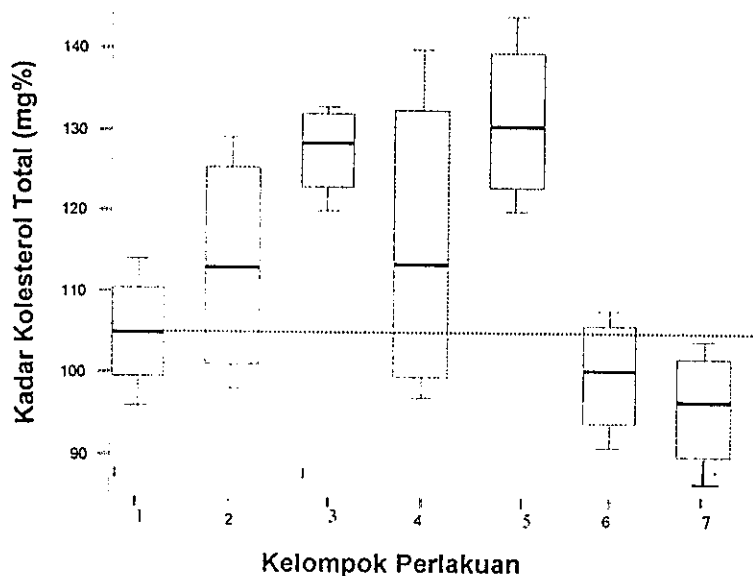
Hasil penelitian berupa kadar kolesterol total, HDL, LDL dan trigliserida yang diukur secara enzimatis didiskripsikan dan dimasukkan dalam tabel 2 serta dibuat grafik box plot.

Tabel 2. Nilai *median* dan *mean* Kolesterol Total, HDL, LDL, Trigliserida, Sel Busa dan Ketebalan Aorta pada tikus Kel. I, Kel. II, Kel. III, Kel. IV, Kel. V, Kel. VI dan Kel. VII.

	Kol. Total (mg%)	HDL (mg%)	LDL (mg%)	Trigliserida (mg%)	Sel Busa (sel)	Ketebalan Aorta (μ)
Kel. I (n=4)						
Median	105,0	29,5	39,0	124,5	0,5	56,2
Mean	105,0	30,0	42,5	126,7	1,0	56,2
SD	(7,53)	(2,16)	(10,8)	(4,1)	(1,4)	(16,1)
Kel. II (n=4)						
Median	113,0	30,0	56,0	141,5	62,5	100,0
Mean	113,2	30,0	55,5	138,7	60,5	96,9
SD	(14,6)	(1,8)	(12,1)	(34,2)	(17,9)	(6,2)
Kel. III (n=4)						
Median	128,5	30,5	85,5	147,5	137,0	100,0
Mean	127,5	30,7	84,5	147,5	135,7	100,0
SD	(5,8)	(0,9)	(14,3)	(14,7)	(49,7)	(0,0)
Kel. IV (n=4)						
Median	113,5	32,0	55,0	136,5	66,5	87,5
Mean	116,0	31,5	57,0	139,2	63,5	90,6
SD	(20,1)	(1,9)	(19,6)	(17,0)	(24,2)	(6,2)
Kel. V (n=4)						
Median	130,5	33,5	72,5	96,5	52,0	56,2
Mean	131,2	34,0	72,0	100,0	49,7	50,0
SD	(10,5)	(1,4)	(2,9)	(8,8)	(9,5)	(39,5)
Kel. VI (n=4)						
Median	100,5	31,5	44,0	128,0	30,5	75,0
Mean	100,0	31,2	43,7	125,5	25,2	68,7
SD	(7,5)	(0,9)	(13,7)	(33,8)	(14,7)	(33,1)
Kel. VII (n=4)						
Median	96,5	27,5	45,0	124,0	22,0	50,0
Mean	96,0	27,2	44,5	121,5	23,5	46,9
SD	(7,5)	(0,96)	(13,4)	(33,8)	(22,1)	(18,8)
<i>P</i>	0,020*	0,008*	0,011*	0,192	0,001*	0,005*

*Kruskal Wallis, $p < 0,05$

5.1.1. Kolesterol Total



Gambar 1. Kadar Kolesterol Total serum tikus wistar

Data Tabel 2 menunjukkan bahwa rata-rata kadar kolesterol total tikus wistar yang diberi injeksi adrenalin i.v pada hari pertama, selanjutnya diberi diit kuning telur (KT) tiap hari dan pakan standar selama 6 minggu (kelompok kontrol perlakuan III) sebesar $128,5 \pm 5,80$ mg/dl, lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol perlakuan II.

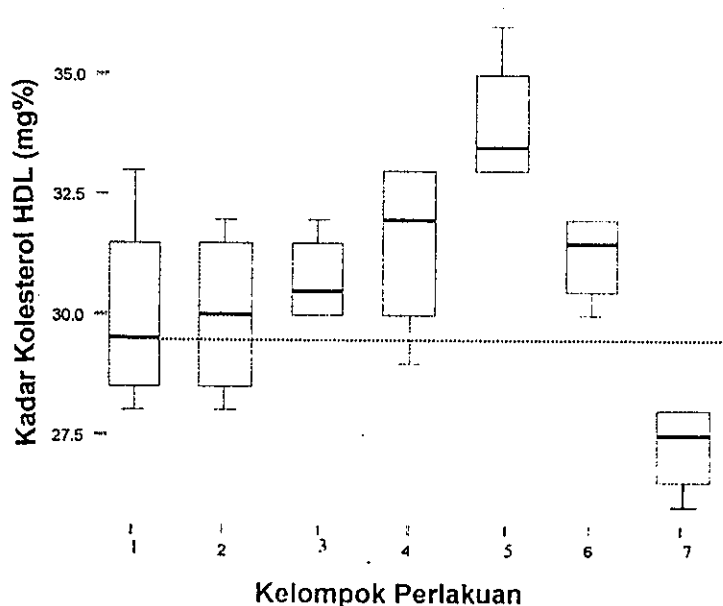
Gambar 1 memperlihatkan tikus yang diberi injeksi inisial adrenalin i.v dilanjutkan pakan standar plus KT selama 2 minggu (kelompok II), median kadar kolesterol totalnya lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol. Begitu pula median kadar kolesterol total kelompok III lebih tinggi dari kelompok I.

Rata-rata kadar kolesterol total kelompok V (tikus yang diberi injeksi inisial adrenalin i.v dilanjutkan pakan standar plus KT selama 2 minggu I, 6 minggu berikutnya diteruskan

dengan pakan standar plus KT dan mengkudu sebesar $131,25 \pm 10,50$ mg/dl, lebih tinggi dibandingkan kelompok IV, VI dan VII.

Rata-rata kadar kolesterol total kelompok VII (tikus yang diberi injeksi inisial adrenalin i.v dilanjutkan pakan standar plus KT selama 2 minggu I, 6 minggu berikutnya diteruskan dengan pakan standar plus mengkudu) sebesar $96,00 \pm 7,53$ mg/dl, lebih rendah dibandingkan kelompok IV, V, dan VI (Gambar 1).

5.1.2. Kolesterol HDL



Gambar 2. Kadar Kolesterol HDL serum tikus wistar

Tabel 2 menunjukkan bahwa rata-rata kadar kolesterol HDL tikus yang diberi injeksi inisial adrenalin plus kuning telur tiap hari selama 8 minggu (kelompok kontrol perlakuan III) sebesar $30,75 \pm 0,96$ mg/dl, lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol perlakuan II maupun

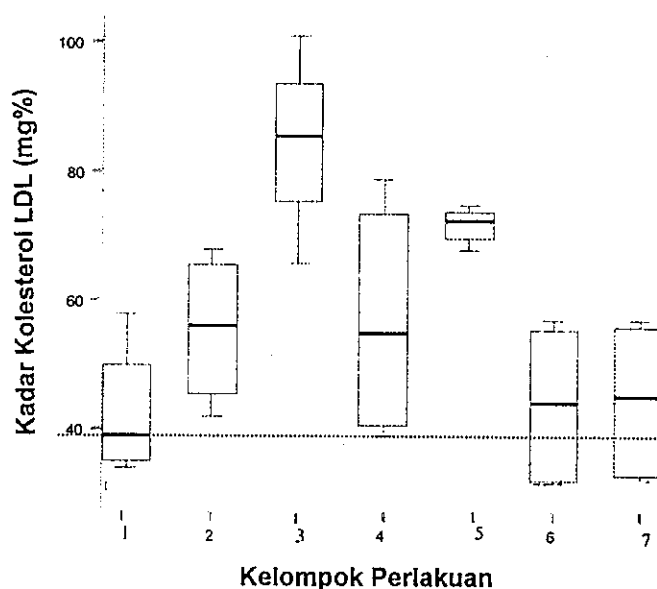
kelompok I (kontrol). Rata-rata kadar HDL tikus yang diberi injeksi adrenalin i.v pada hari pertama, selanjutnya diberi diit kuning telur (KT) tiap hari dan pakan standar selama 2 minggu dilanjutkan pakan standar plus mengkudu dan KT selama 6 minggu kemudian (kelompok V) kadar HDL paling tinggi sebesar $34,00 \pm 1,42$ mg/dl dibandingkan kelompok perlakuan IV, VI dan VII.

Gambar 2 memperlihatkan bahwa tikus yang diberi injeksi inisial adrenalin i.v dilanjutkan pakan standar plus KT selama 8 minggu (kelompok III), nilai median kadar HDL-nya lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol perlakuan II maupun kelompok I (kontrol)

Rata-rata kadar HDL kelompok V (tikus yang diberi injeksi inisial adrenalin i.v dilanjutkan pakan standar plus KT selama 2 minggu pertama, 6 minggu berikutnya diteruskan dengan pakan standar plus KT dan mengkudu) sebesar $34,00 \pm 1,41$ mg/dl, lebih tinggi dibandingkan kelompok IV, VI dan VII.

Rata-rata kadar HDL kelompok VII (tikus yang diberi injeksi inisial adrenalin i.v dilanjutkan pakan standar plus KT selama 2 minggu pertama, 6 minggu berikutnya diteruskan dengan pakan standar plus mengkudu) sebesar $27,25 \pm 0,96$ mg/dl, lebih rendah dibandingkan kelompok IV, V, dan VI (Gambar 2).

5.1.3. Kolesterol LDL



Gambar 3. Kadar Kolesterol LDL Serum Tikus Wistar

Rata-rata kadar LDL tikus yang diberi injeksi adrenalin i.v pada hari pertama, dilanjutkan dengan diit kuning telur (KT) tiap hari dan pakan standar selama 8 minggu (kelompok kontrol perlakuan III) sebesar $84,5 \pm 14,34$ mg/dl, lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol perlakuan II.

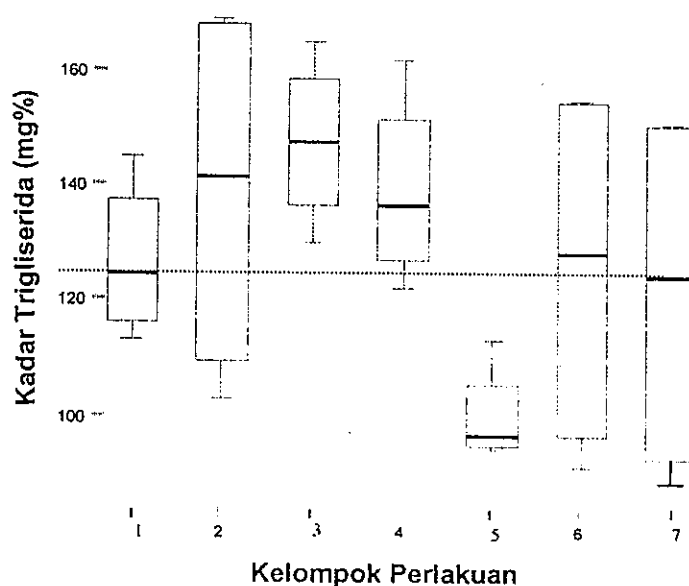
Gambar 3 memperlihatkan bahwa tikus yang diberi injeksi inisial adrenalin i.v dilanjutkan pakan standar plus KT selama 8 minggu (kelompok III), nilai median kadar LDL-nya lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol I.

Rata-rata kadar LDL kelompok V (tikus yang diberi injeksi inisial adrenalin i.v dilanjutkan pakan standar plus KT selama 2 minggu pertama, 6 minggu berikutnya diteruskan dengan pakan standar plus KT dan mengkudu) sebesar $72,00 \pm 2,94$ mg/dl, lebih tinggi

dibandingkan kelompok IV, VI dan VII.

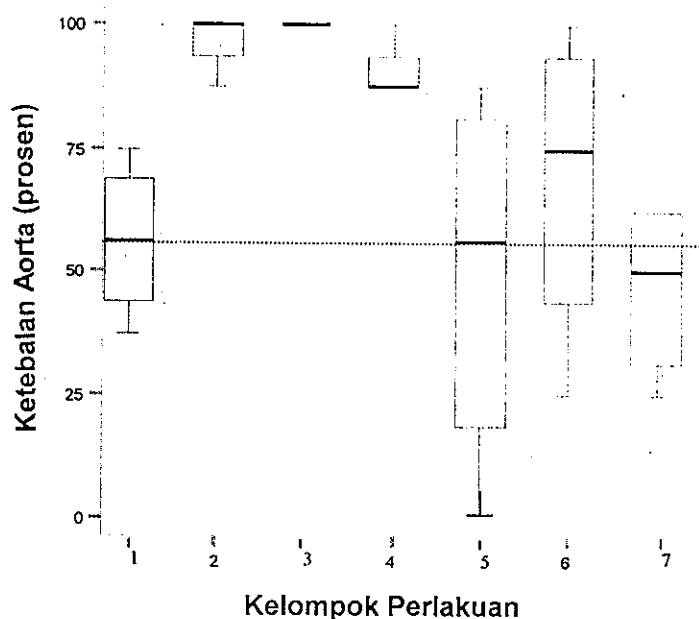
Rata-rata kadar LDL kelompok VI (tikus yang diberi injeksi inisial adrenalin i.v dilanjutkan pakan standar plus KT selama 2 minggu pertama, 3 minggu berikutnya diteruskan dengan pakan standar plus mengkudu) sebesar $43,75 \pm 13,72$ mg/dl, lebih rendah dibandingkan kelompok IV, V, dan VII (Gambar 3).

5.1.4. Trigliserida



Gambar 4. Kadar Trigliserida Serum Tikus Wistar

Tabel 2 menunjukkan bahwa rata-rata kadar trigliserida tikus yang diberi injeksi adrenalin i.v pada hari pertama, selanjutnya diit kuning telur (KT) tiap hari dan pakan standar selama 8 minggu (kelompok kontrol perlakuan III) sebesar $147,5 \pm 14,75$ mg/dl, lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol perlakuan II. Rata-rata kadar trigliserida kelompok IV, lebih



Gambar 13. Persentase Ketebalan Dinding Aorta Abdominalis Tikus Wistar

Rata-rata persentase ketebalan aorta kelompok III sebesar $100 \pm 0,0$ persen, lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol perlakuan II. Tikus yang diberi injeksi inisial adrenalin i.v dilanjutkan pakan standar plus KT selama 8 minggu (kelompok III), rata-rata persentase ketebalan dinding aortanya lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok I, demikian juga kelompok II lebih tinggi dibandingkan kelompok I.

Gambar 13 menggambarkan bahwa rata-rata persentase ketebalan aorta kelompok VII : lebih rendah dibandingkan kelompok IV, V, dan VI. Jumlah persentase ketebalan aorta kelompok VII juga jelas masih lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol perlakuan II dan III.

5.4. Uji Hipotesis

5.4.1. Kadar Kolesterol Total

Uji hipotesis terhadap kadar kolesterol total dalam kelompok perlakuan, hasilnya dimuat dalam Tabel 3. Uji terhadap kadar kolesterol total dalam kelompok perlakuan $p=0,020$, atau berbeda bermakna ($p<0,05$).

Uji antar kelompok perlakuan terhadap kadar kolesterol total yang berbeda bermakna ($p<0,05$) didapatkan pada perbandingan antara kelompok I dengan III ($p=0,021$), kelompok III dengan kelompok VII ($p=0,021$), kelompok V dengan VII ($p=0,021$).

Berdasarkan uji tersebut didapatkan tidak ada perbedaan kadar kolesterol total ($p=1,000$) pada perbandingan antar kelompok IV yang diberi injeksi inisial adrenalin dan KT 2 minggu, dilanjutkan pakan standar plus mengkudu dan KT 3 minggu kemudian, dibanding kelompok kontrol perlakuan II.

5.4.2. Kolesterol HDL

Uji dua sampel terhadap kadar kolesterol HDL pada kelompok perlakuan $p=0,008$ atau terdapat perbedaan bermakna ($p<0,05$).

Uji terhadap kadar HDL didapatkan perbedaan bermakna dengan $p<0,05$ pada perbandingan antar kelompok V (diberi injeksi inisial adrenalin dan KT 2 minggu, dilanjutkan pakan standar plus mengkudu dan KT 6 minggu kemudian) dibandingkan dengan kelompok kontrol perlakuan III ($p=0,019$), kelompok VII (injeksi inisial adrenalin dan KT 2 minggu dilanjutkan pakan standar plus mengkudu 6 minggu) dengan kelompok kontrol perlakuan III ($p=0,019$), kelompok V (perlakuan dengan KT diteruskan) dengan VII (perlakuan dengan KT dihentikan) didapat nilai $p=0,019$, kelompok VI dengan VII yaitu

perlakuan dengan menghentikan KT selama 3 dan 6 minggu ($p=0,019$).

Dengan uji beda didapatkan tidak ada perbedaan kadar HDL pada perbandingan antar kelompok kontrol perlakuan II dibanding kelompok kontrol dengan nilai $p=1,000$.

5.4.3. Kolesterol LDL

Uji beda dua sampel terhadap kadar kolesterol LDL dan kelompok perlakuan didapatkan $p=0,011$ atau terdapat perbedaan bermakna ($p<0,05$).

Uji terhadap kadar LDL didapatkan perbedaan bermakna dengan $p=0,05$ dengan membandingkan kelompok III yang merupakan kelompok kontrol perlakuan dengan kelompok I sebagai kontrol ($p=0,021$), kelompok VII yang merupakan kelompok perlakuan dengan KT dihentikan selama 6 minggu dengan kelompok kontrol perlakuan III ($p=0,021$), kelompok VII dengan V yang merupakan kelompok perlakuan dengan KT diteruskan dan dihentikan ($p=0,021$).

Uji beda terhadap kadar LDL didapatkan tidak ada perbedaan ($p=1,000$) antara kelompok IV (diberi injeksi inisial adrenalin dan KT 2 minggu, dilanjutkan pakan standar plus KT dan mengkudu 3 minggu) dengan kelompok kontrol perlakuan II.

5.4.4. Kolesterol Trigliserida

Uji terhadap trigliserida pada kelompok perlakuan didapatkan $p=0,192$, atau terdapat perbedaan yang tidak bermakna ($p>0,05$).

Sementara uji terhadap kadar kolesterol trigleserida didapatkan perbedaan bermakna dengan $p<0,05$, dengan membandingkan antar kelompok V yang diberi injeksi inisial adrenalin dan KT 2 minggu dilanjutkan pakan standar plus KT dan mengkudu 6 minggu dengan kelompok kontrol perlakuan III ($p=0,021$), dan terdapat perbedaan bermakna pula dengan

membandingkan kelompok V dengan IV yang merupakan kelompok perlakuan dengan meneruskan KT selama 3 dan 6 minggu ($p=0,021$).

Uji beda terhadap kadar trigliserida menunjukkan tidak ada perbedaan ($p=1,000$) antara kelompok VI dan VII yang merupakan kelompok perlakuan dengan menghentikan KT selama 3 dan 6 minggu dibanding kelompok kontrol I, juga tidak ada perbedaan ($p=1,000$) antara kelompok IV yang diberi injeksi inisial adrenalin dan KT 2 minggu dilanjutkan pakan standar plus KT dan mengkudu 3 minggu, serta kelompok III yang merupakan kelompok kontrol perlakuan 8 minggu dibandingkan kelompok kontrol perlakuan II.

5.4.5. Jumlah Sel Busa

Tabel 2 memperlihatkan uji *Kruskal-wallis* untuk membandingkan dua sampel terhadap jumlah sel busa didapatkan $p=0,001$, atau didapatkan perbedaan yang sangat bermakna.

Uji *Wilcoxon Rank Sum* didapatkan perbedaan bermakna dengan $p<0,05$ dengan pembandingan antar kelompok II dengan I ($p=0,020$), kelompok III dengan I ($p=0,020$), kelompok VI dengan I ($p=0,020$), kelompok VII dengan I ($p=0,042$), kelompok III dengan II ($p=0,043$), kelompok VI dengan II ($p=0,021$), kelompok V dengan III ($p=0,021$), kelompok VII dengan III ($p=0,021$).

Uji beda menunjukkan tidak terdapat perbedaan ($p=1,000$) dengan membandingkan antara kelompok IV yang diberi injeksi inisial adrenalin dan KT 2 minggu dilanjutkan pakan standar plus KT dan mengkudu 3 minggu, dibandingkan kelompok kontrol perlakuan II.

5.4.6. Ketebalan Aorta

Uji yang tampak pada Tabel 2 menunjukkan perbedaan dua sampel terhadap ketebalan aorta dengan nilai $p=0,005$, yang berarti didapatkan perbedaan yang bermakna ($p<0,05$).

Tabel 3 menunjukkan uji beda terhadap ketebalan aorta didapatkan perbedaan bermakna

dengan $p < 0,05$ dengan pembandingan antar kelompok II dengan I ($p = 0,018$), kelompok III dengan I ($p = 0,014$), kelompok V dengan III ($p = 0,014$), kelompok VII dengan III ($p = 0,013$).

Tabel 3. Uji beda kadar Kolesterol Total, HDL, LDL, Trigliserida, Sel Busa dan Ketebalan Aorta antara Kel. I, Kel. II, Kel. III, Kel. IV, Kel. V, Kel. VI, dan Kel. VII.

Kelompok	P	Kol. Total (mg%)	HDL (mg%)	LDL (mg%)	Trigliserida (mg%)	Sel Busa (sel)	Ketebalan Aorta (%)
I dan II	P	0,386	1,000	0,110	0,773	0,020*	0,018*
I dan III	P	0,021*	0,375	0,021*	0,110	0,020*	0,014*
I dan VI	P	0,564	0,306	0,663	1,000	0,020*	0,486
I dan VII	P	0,149	0,038*	0,773	1,000	0,042*	0,457
II dan III	P	0,149	0,557	0,043*	1,000	0,043*	0,317
II dan IV	P	1,000	0,240	1,000	1,000	1,000	0,186
II dan VI	P	0,191	0,297	0,248	0,248	0,021*	0,122
III dan V	P	0,559	0,019*	0,248	0,021*	0,021*	0,014*
III dan VII	P	0,021*	0,019*	0,021*	0,248	0,021*	0,013*
IV dan V	P	0,248	0,065	0,309	0,021*	0,564	0,046*
IV dan VI	P	0,309	0,659	0,248	0,564	0,059	0,353
V dan VII	P	0,021*	0,019*	0,021*	0,468	0,059	0,661
VI dan VII	P	0,468	0,019*	0,663	0,386	0,885	0,297

Wilcoxon Rank Sum * $p < 0,05$

5.5. Analisis Korelasi

5.5.1. Uji korelasi *Spearman*

Uji korelasi *Spearman* dilakukan setelah didapatkan distribusi data yang tidak normal dengan uji *Kolmogorov-smirnov* ($p < 0,05$). Hasil uji korelasi *Spearman* dimuat dalam Tabel 4.

Uji korelasi diuraikan sebagai berikut:

- Antara kelompok perlakuan dengan variabel pengukuran kadar kolesterol total, HDL, LDL, trigliserida, jumlah sel busa dan ketebalan aorta tidak didapatkan korelasi, berarti perlakuan yang diberikan tidak berpengaruh terhadap kadar kolesterol, HDL, LDL, trigliserida, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta.
- Antara variabel pengukuran kadar kolesterol total dengan kadar LDL, HDL dan jumlah sel busa didapatkan korelasi positif kuat, berarti semakin meningkat kadar kolesterol total maka semakin besar pula peningkatan kadar LDL, HDL, dan jumlah sel busa.

- c. Antara variabel pengukuran kadar kolesterol HDL dengan kolesterol total, dan LDL terdapat korelasi positif kuat, berarti semakin meningkat kadar HDL semakin besar pula peningkatan kadar LDL dan kolesterol total.
- d. Antara variabel pengukuran kadar trigliserida tidak terdapat hubungan dengan variabel pengukuran kadar kolesterol total, LDL, HDL, jumlah sel busa dan ketebalan aorta.
- e. Antara variabel pengukuran jumlah sel busa terdapat korelasi positif yang sangat kuat dengan variabel pengukuran kolesterol total, LDL, dan ketebalan aorta. Berarti semakin banyak jumlah sel busa semakin meningkat kadar kolesterol total dan LDL, serta semakin tebal dinding aorta.
- f. Antara variabel pengukuran ketebalan dinding aorta terdapat korelasi positif yang sangat kuat dengan jumlah sel busa, berarti semakin tebal dinding aorta semakin banyak jumlah sel busa.

Tabel 4. Koefisien korelasi *Spearman* antara variabel kelompok perlakuan, kadar HDL, LDL, jumlah Sel Busa dan Ketebalan Aorta.

	Kelompok Perlakuan	Kol. Tot(mg%)	HDL (mg%)	LDL (mg%)	TG (mg%)	Sel Busa(sel)	Aorta (%)
Kel.Perlakuan	1,000	-0,239	-0,058	-0,137	-0,259	-0,095	-0,352
<i>p</i>	-	0,221	0,769	0,486	0,184	0,630	0,066
Kol.Tot(mg%)	-0,239	1,000	0,735**	0,893**	-0,154	0,609**	0,334
<i>p</i>	0,221	-	0,000	0,000	0,435	0,001	0,082
HDL (mg%)	-0,058	0,735**	1,000	0,570**	-0,177	0,296	0,193
<i>p</i>	0,769	0,000	-	0,002	0,367	0,126	0,325
LDL (mg%)	-0,137	0,893**	0,570**	1,000	-0,226	0,694**	0,369
<i>p</i>	0,486	0,000	0,002	-	0,247	0,000	0,053
TG (mg%)	-0,259	-0,154	-0,177	-0,226	1,000	0,219	0,339
<i>p</i>	0,184	0,435	0,367	0,247	-	0,262	0,078
Sel Busa (sel)	-0,095	0,609**	0,296	0,694**	0,219	1,000	0,631**
<i>p</i>	0,630	0,001	0,126	0,000	0,262	-	0,000
Aorta (%)	-0,352	0,334	0,193	0,369	0,339	0,631**	1,000
<i>p</i>	0,066	0,082	0,325	0,053	0,078	0,000	-

* $p < 0.05$ ** $p \leq 0.01$

BAB 6.

PEMBAHASAN

6.1. Pengaruh Mengkudu Terhadap Kadar Lipid

6.1.1 Perubahan Kadar Lipid

Penelitian ini menunjukkan bahwa injeksi inisial adrenalin yang diteruskan diit KT (induksi aterosklerotik) menghasilkan peningkatan kadar kolesterol total, HDL, LDL dan trigliserida pada minggu ke-2. Keadaan tersebut semakin meningkat pada pemberian KT sampai minggu ke-8. Hal ini sesuai dengan dengan penelitian yang pernah dilaporkan oleh Ginsberg dkk. (1995)⁽⁶¹⁾ dan Vouristo dkk (1994)⁽⁶²⁾.

Pemberian mengkudu selama 6 minggu dengan KT masih diberikan menghasilkan penurunan kolesterol LDL dan trigliserida yang meskipun tidak berbeda bermakna secara statistik dengan kelompok kontrol, namun terlihat kecenderungan menurun, sedangkan kadar HDL terjadi peningkatan yang bermakna secara statistik. Kemungkinan ini disebabkan kandungan *L-arginin* dalam mengkudu sebagai penurun kadar lipid darah. Meskipun belum jelas kerja *L-arginin* dalam menurunkan kadar lipid darah, Boger (1997) menyebutkan bahwa pemberian *L-arginin* pada kelinci dapat merubah profil lipid darah sekuat *HMG-CoA reduktase inhibitor*⁽⁴⁴⁾. Perlakuan ini tidak menghasilkan penurunan kadar kolesterol total, hanya dapat menghambat peningkatan kadar kolesterol total tersebut. Mungkin disebabkan waktu pemberian mengkudu yang kurang lama.

Pemberian mengkudu tanpa diit KT selama 3 minggu tetap dapat meningkatkan kadar HDL, namun bila pemberian mengkudu dilanjutkan sampai 6 minggu ternyata menghasilkan

penurunan kadar HDL. Penurunan kadar HDL ini mungkin disebabkan oleh kandungan vitamin C sebagai antioksidan dalam mengkudu. Brown (2001) juga menyatakan bahwa pemberian antioksidan dapat menurunkan kadar HDL⁽⁵⁰⁾.

6.1.2. Pengaruh Lama Pemberian Mengkudu Terhadap Kadar Lipid

Pada penelitian ini, pemberian mengkudu selama 6 minggu dengan penghentian diet KT menghasilkan penurunan kolesterol total dan LDL secara bermakna, namun pada saat pemberian mengkudu selama 3 minggu, maka terjadi penurunan kolesterol total dan LDL yang belum bermakna. Keadaan itu juga terjadi pada kelompok tikus yang diberi mengkudu selama 3 minggu dibarengi dengan diit KT yang tidak menghasilkan penurunan kolesterol LDL, hanya dapat menghambat peningkatan kadar kolesterol LDL. Namun bila pemberian mengkudu dilanjutkan sampai 6 minggu meskipun dibarengi dengan diit KT, akan terjadi penurunan kadar kolesterol LDL.

Berdasarkan fakta tersebut, maka disimpulkan bahwa untuk menurunkan kadar kolesterol total dan LDL, diperlukan waktu pemberian mengkudu yang lebih lama. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilaporkan oleh Mc. Kenney (1998) bahwa efek *Atorvastatin* dalam menurunkan kadar lipid darah yang dalam keadaan hiperkolestrolema, memerlukan waktu 12 minggu⁽⁶³⁾. Adler dkk. (1997) berpendapat sama, dan menyatakan bahwa *garlic* dan minyak ikan selama 12 minggu dapat menurunkan kadar lipid darah pada kondisi hiperkolestrolema⁽⁶⁴⁾. Sedangkan penelitian ini hanya menggunakan waktu selama 6 minggu, sehingga kadar kolesterol total dan LDL pada diit tinggi kolesterol yang tetap diberikan (diit KT), tidak menghasilkan penurunan kolesterol total dan LDL yang bermakna.

6.1.3. Pengaruh Diet KT Terhadap Efek Mengkudu Dalam Menurunkan Kadar Lipid darah

Pemberian mengkudu dengan penghentian diit KT menghasilkan penurunan kadar kolesterol total dan LDL yang bermakna, namun bila diit KT masih tetap diberikan, maka penurunan tersebut tidak bermakna secara statistik. Hal ini disebabkan karena diit KT dapat meningkatkan kadar kolesterol darah. Ginsberg. (1994) melaporkan bahwa pemberian 2 (dua) butir telur sehari dapat meningkatkan kolesterol darah⁽⁶⁵⁾, sehingga pengaruh mengkudu dalam menurunkan lipid darah dengan diit KT yang masih diberikan menjadi kurang optimal, atau perlu waktu yang lebih lama.

Mengkudu mengandung *L-arginin* yang dapat menurunkan kadar lipid darah. Namun bila diit tinggi kolesterol tetap diberikan, efek *L-arginin* menjadi kurang optimal. Aji W., dkk. (1997) juga menyatakan hal yang sama, yaitu bahwa pemberian *L-arginin* pada tikus tanpa reseptor LDL yang diberi diit tinggi kolesterol tetap dapat meningkatkan kolesterol plasma, dibanding kelompok yang hanya diberi pakan standar⁽⁶⁶⁾.

Pemberian mengkudu selama 3 dan 6 minggu disertai diit KT, menghasilkan peningkatan kadar HDL dan terjadi sedikit peningkatan kadar kolesterol total pada pemberian 6 minggu, sementara bila diit KT dihentikan, maka kadar HDL dan kolesterol total mengalami penurunan. Berdasarkan hal tersebut, dapat disimpulkan bahwa kadar HDL dan kolesterol total sangat dipengaruhi juga oleh diit KT. Pernyataan hasil yang sama juga dilaporkan oleh Scnorhr (1994), yaitu bahwa pemberian KT selama 6 minggu dapat meningkatkan kadar kolesterol total sebesar 4%, sedangkan kadar HDL meningkat sampai 10%⁽⁶⁷⁾.

Penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian mengkudu selama 6 minggu disertai diit

KT, menghasilkan penurunan kadar trigliserida yang menyolok (kadar trigliserida menjadi sangat rendah). Keadaan ini tidak sesuai dengan pola penurunan kadar kolesterol LDL, yang meskipun terjadi penurunan tapi tidak setajam penurunan kadar trigliserida. Selain itu pada kondisi penghentian diit KT, dihasilkan kadar trigliserida yang malah lebih tinggi. Hal ini mungkin disebabkan kesalahan dalam mengukur kadar trigliserida pada kelompok tersebut.

6.2. Pengaruh Mengkudu Terhadap Jumlah Sel Busa

6.2.1. Mengkudu Menurunkan Jumlah Sel Busa

Pada penelitian ini dilakukan pemberian injeksi inisial adrenalin yang diteruskan dengan diit KT selama 2 minggu untuk menginduksi lesi aterosklerotik, seperti yang telah terbukti pada penelitian pendahuluan dan pada penelitian yang telah dilakukan oleh Prasetyo A (2002)⁽¹⁵⁾.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa rata-rata jumlah sel busa menurun setelah pemberian mengkudu. Rata-rata jumlah sel busa paling rendah dihasilkan pada kelompok yang diberi mengkudu selama 6 minggu dengan penghentian diit KT. Jumlah sel busa pada kelompok yang diberi mengkudu dan KT selama 3 minggu tidak berbeda dengan kelompok perlakuan. Namun bila pemberian mengkudu diteruskan sampai 6 minggu terdapat penurunan jumlah sel busa.

Mengkudu mengandung beberapa komponen zat yang dapat menghambat penambahan jumlah sel busa (misalnya; *L-arginine*). Penelitian menggunakan *L-arginine* sebagai suplemen pada tikus tanpa reseptor LDL yang diberi diit tinggi kolesterol, dilaporkan oleh Aji dkk. (1997), bahwa lesi aterosklerotik berupa sel busa dapat menurun sampai lebih 40% dibanding yang hanya mendapat diit tinggi kolesterol⁽⁶⁷⁾.

Salah satu fungsi *L-arginine* adalah mengurangi ekspresi *ICAM-1*, sehingga penempelan monosit pada endotel dapat dikurangi, menyebabkan jumlah monosit (yang kemudian berubah menjadi makrofag pada intima) juga berkurang, sehingga jumlah sel busa juga dapat berkurang. Mekanisme kerja *L-arginine* dalam mengurangi lesi aterosklerotik belum ditemukan, tapi mungkin melibatkan kerja makrofag, sintesis NO atau penurunan oksidasi LDL. Pada kondisi aterosklerosis, sintesis NO tidak dilakukan oleh endotel, melainkan oleh makrofag^(68,69,70). Pada kondisi tersebut makrofag tidak punya kemampuan untuk memodifikasi LDL dan menangkap LDL-oks sehingga tidak terjadi sel busa dan mengurangi potensi aterogeniknya⁽⁷¹⁾

Mengkudu terbukti dapat menstimulasi pelepasan mediator IL-1 dan TNF yang dapat memacu kerja NOS dalam mensintesis NO. Salah satu fungsi NO adalah juga dapat sebagai antioksidan, sehingga dapat mencegah radikal bebas dan menyebabkan berkurangnya penumpukan sel busa.

Mengkudu juga mengandung β carotene dan vitamin C, yang juga dapat mengurangi jumlah sel busa, oleh karena berfungsi sebagai anti oksidan. Vitamin ini termasuk golongan antioksidan pemutus rantai, sehingga radikal bebas yang sudah terbentuk akan diikat sebagai katalisator reaksi hidroksilasi yang mencegah peroksidasi lipid. Pencegahan peroksidasi lipid, menyebabkan tidak terbentuknya LDL-oks, sehingga tidak dilahap oleh makrofag, yang akhirnya dapat mencegah pembentukan sel busa.

6.2.2. Pengaruh Lamanya Pemberian Mengkudu

Selama ini, belum ada patokan pasti tentang lama penggunaan mengkudu sebagai bahan obat, yang dapat digunakan sebagai acuan. Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan yang dilakukan untuk melihat dosis efektif mengkudu, didapatkan hasil bahwa pemberian

mengkudu selama 2 minggu dalam berbagai variasi dosis, terjadi perubahan jumlah sel busa namun tidak bermakna. Sehingga penelitian ini menggunakan waktu pemberian mengkudu dengan interval waktu 3 minggu dan 6 minggu (lebih lama dari lama waktu penelitian pendahuluan), untuk melihat perubahan yang terjadi.

Hasil penelitian menunjukkan rata-rata jumlah sel busa pada pemberian mengkudu selama 3 dan 6 minggu sama-sama menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna ($p > 0,05$) dengan kelompok kontrol perlakuan. Perbandingan antara kelompok IV dan VI yang diberi mengkudu selama 3 minggu dengan kelompok V dan VII yang diberi mengkudu 6 minggu juga tidak didapatkan perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$). Namun bila melihat grafik pada Gambar 5 terlihat kecenderungan menurun pada kelompok V dan VII dibandingkan IV dan VI, yang berarti diperlukan waktu yang lebih lama untuk mengurangi jumlah sel busa. Perbedaan antara waktu 3 minggu dengan 6 minggu tidak berbeda bermakna, mungkin dikarenakan perbedaan waktu pemberian yang kurang lama.

6.3. Pengaruh Mengkudu Terhadap Ketebalan Aorta

Dinding pembuluh darah aorta terdiri dari lapisan endotel, intima, media dan adventitia. Pada aterosklerotik yang paling dini, terdapat sejumlah sel busa pada lapisan intima yang kemudian memacu proliferasi sel otot polos dan jaringan ikat fibrosa, sehingga sel busa juga terdapat di lapisan media. Adanya sel busa pada lapisan intima dan media, menyebabkan dinding pembuluh darah menebal.

Injeksi inisial adrenalin yang dilanjutkan diit kuning telur selama 2 minggu, dan 8 minggu ternyata meningkatkan ketebalan aorta sebesar 100 %. Pada kondisi ini ditemukan adanya sel busa berlapis dan miosit berisi butiran lemak. Hal ini sesuai dengan gambaran mikroskopik lesi aterosklerotik tipe I sampai II.

Sel otot polos merupakan bagian dari lesi tipe I-III. Stary (1974) menyebutkan bahwa otot polos pada lesi aterosklerotik tipe II tampak meningkat⁽⁷²⁾. Peningkatan sel otot polos disebabkan oleh proliferasi sel tersebut yang dipacu oleh promotor pertumbuhan sel otot polos seperti PDGF dan *basic fibroblast GF* serta dihambatnya kerja inhibitor pertumbuhan sel otot polos seperti heparin sulfat, NO, *interferon gamma* dan TGF- β ⁽⁷³⁾

Penelitian ini menunjukkan bahwa pada pemberian mengkudu selama 3 minggu dengan pemberian diit KT maupun bila diit KT dihentikan, tidak didapatkan pengurangan ketebalan secara bermakna. Namun bila pemberian mengkudu diperlama menjadi 6 minggu, terjadi pengurangan ketebalan aorta secara bermakna pada kedua kelompok itu. Meskipun pada akhir minggu ke-6 pemberian mengkudu dengan diit KT yang dihentikan belum dapat mengurangi ketebalan aorta sampai sama dengan kelompok kontrol normal. Hal ini dapat disimpulkan bahwa pengurangan ketebalan dinding aorta memerlukan waktu pemberian mengkudu yang lebih lama.

Mengkudu mengandung *L-arginine* yang dapat mengurangi lesi aterosklerotik. Penelitian yang dilaporkan oleh Jeremy dkk. (1996) juga menyatakan bahwa pemberian *L-arginine* selama 7 minggu pada kelinci dengan hiperkolesterolemia dapat mengurangi lesi aterosklerotik⁽⁷⁴⁾. Penelitian lain yang juga mendukung yaitu seperti dilaporkan oleh Boger (1997), yang menyatakan bahwa pemberian *L-arginine* dapat mengurangi ketebalan intima yang diukur pada lumen aorta dengan planimetri, pada kelinci dengan hiperkolesterolemia⁽⁴⁴⁾.

L-arginine diperlukan dalam sintesis pembentukan NO. Salah satu fungsi NO adalah sebagai inhibitor pertumbuhan sel otot polos, sehingga mungkin dengan pemberian mengkudu yang mengandung *L-arginine* akan terjadi sintesis NO yang dapat menekan proliferasi sel otot pada intima dan media, dengan demikian ketebalan dinding aorta dapat berkurang. Selain itu

mengkudu juga mampu menstimulasi pelepasan *interferon gamma* yang juga merupakan inhibitor pertumbuhan sel otot polos.

Pada lesi aterosklerotik tipe III, tampak timbunan lipid yang lebih banyak dan tebal di bawah lapisan makrophag dan sel busa. Sedangkan pada lesi lanjut ditandai deposit lipid ekstra sel yang cukup besar untuk merusak intima, sehingga terjadi deformitas dinding arteri dan menimbulkan komplikasi fisura, hematoma dan trombosis. Namun pada penelitian ini belum terjadi lesi aterosklerotik tipe III dan lanjut, sehingga tidak dapat melihat apakah mengkudu dapat mengurangi ketebalan dinding aorta pada lesi tersebut.

6.4. Pengaruh Diet KT Terhadap Efek Mengkudu Dalam Menghambat Lesi Aterosklerotik

Berdasarkan uji beda terhadap jumlah sel busa dengan membandingkan kelompok IV (yang diberi mengkudu 3 minggu plus diit KT) dengan kelompok kontrol perlakuan, didapatkan nilai $p=1,000$, sedangkan perbandingan antara kelompok VI (yang diberi mengkudu 3 minggu diit KT dihentikan) dengan kelompok kontrol perlakuan, didapatkan penurunan jumlah sel busa secara bermakna ($p=0,029$). Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa penghentian diit tinggi kolesterol (kuning telur) akan lebih membantu efek mengkudu dalam menurunkan jumlah sel busa. Hal ini juga jelas terlihat pada Gambar 5, bahwa rata-rata sel busa paling rendah pada kelompok perlakuan adalah kelompok VII (rata-rata hampir mendekati kelompok kontrol), meskipun belum dapat mengurangi jumlah sel busa nol. Mungkin hal ini disebabkan pemberian mengkudu yang kurang lama.

6.5. Hubungan Kadar Lipid Dengan Jumlah Sel Busa dan Ketebalan Aorta

Hasil penelitian menunjukkan adanya hubungan searah yang signifikan ($p=0,05$) antara kadar kolesterol total, kadar LDL serum dengan jumlah sel busa. Berdasarkan hasil analisis

tersebut, maka disimpulkan bahwa kolesterol total dan LDL-lah yang terutama menyebabkan meningkatnya jumlah sel busa

Schwenke (1989) melaporkan bahwa peningkatan konsentrasi LDL di dinding arteri merupakan langkah awal dalam patogenesis lesi aterosklerotik pada kelinci yang diberi diet tinggi kolesterol⁽³³⁾.

Salah satu faktor yang memberikan peluang masuknya lipoprotein plasma ke dalam tunika intima adalah mediator inflamasi, yang pada penelitian ini dilepaskan oleh karena pemberian injeksi inisial adrenalin iv, sehingga menimbulkan jejas pada endotel dan menyebabkan disfungsi endotel.⁽²⁵⁾

Kadar LDL serum yang tinggi dapat menyebabkan permeabilitas endotel meningkat sehingga LDL masuk ke subendotel dan menimbulkan jejas pada endotel. Endotel yang terjejas akan melepaskan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dapat menstimulasi oksidasi dari LDL menjadi mm-LDL. Mm-LDL merangsang sel endotel untuk melepaskan sitokin ICAM-1, VCAM-1 dan E-selektin yang dapat menyebabkan aderensi monosit, sehingga monosit menepi, menempel pada endotel. Sel endotel kemudian melepaskan MCP-1 yang menyebabkan monosit masuk ke intima. Kemudian sel endotel melepaskan MCS-F yang merubah monosit menjadi makrofag, yang merangsang oksidasi LDL dari Mm-LDL menjadi oksidasi penuh (LDL-oks). Kemudian makrofag dengan *reseptor scavenger* yang dimilikinya memfagosit LDL-oks sehingga terbentuk sel busa.^(75,76) Sehingga dapat diterangkan bahwa peningkatan LDL dapat meningkatkan jumlah sel busa, seperti yang tampak pada kelompok kontrol perlakuan yang diberi diet tinggi KT, didapatkan kadar LDL yang meningkat, dan pada kelompok tersebut juga didapatkan banyak sel busa.

Uji korelasi menunjukkan jumlah sel busa sangat berhubungan dengan kadar kolesterol

total dan kadar LDL, dimana kadar kolesterol total dan LDL yang meningkat didapatkan jumlah sel busa yang banyak, dan pada kadar kolesterol total dan LDL yang sedikit, didapatkan jumlah sel busa sedikit pula. Hubungan ini terjadi karena kadar LDL yang rendah, mengakibatkan LDL yang teroksidasi juga sedikit, sehingga pembentukan sel busa juga dihambat.

Salah satu fungsi lipoprotein HDL adalah membawa kolesterol dari jaringan perifer kembali ke hepar⁽³¹⁾, sehingga untuk membuang kolesterol di jaringan perifer termasuk dari lesi sklerotik diperlukan peningkatan kadar HDL.

Pemberian mengkudu selama 6 minggu plus diit KT dapat meningkatkan kadar HDL secara statistik bermakna ($p=0,029$) dibanding kontrol perlakuan, dengan rata-rata kadar HDL paling tinggi dibanding kelompok lainnya. Pada kelompok tersebut juga didapatkan jumlah sel busa yang menurun secara signifikan ($p=0,029$) dibanding kontrol perlakuan. Apabila kelompok tersebut dibandingkan dengan kelompok diit KT yang dihentikan dengan waktu pemberian yang sama, maka terdapat perbedaan jumlah sel busa secara tidak bermakna ($p=0,057$). Hal ini mungkin karena kelompok dengan diit KT yang dihentikan tersebut didapatkan kadar HDL paling rendah dibanding kelompok lainnya, sehingga fungsi HDL sebagai pembawa kolesterol dari jaringan perifer khususnya sel busa kurang optimal.

Berdasarkan uji korelasi, didapatkan hubungan searah yang sangat kuat antara jumlah sel busa dengan ketebalan dinding aorta, oleh karena sel busa yang terbentuk berasal dari makrofag pada tunika intima dan media. Makrofag pada lesi aterosklerotik mengekspresikan berbagai sitokin dan molekul pengatur pertumbuhan termasuk PDGF⁽⁷⁵⁾ yang dapat mengaktifasi proliferasi sel-sel miosit sehingga mengakibatkan bertambahnya ketebalan dinding pembuluh darah.

6.6. Keterbatasan Dalam Penelitian Ini

Penelitian ini mempunyai beberapa kelemahan yaitu :

- a. Penelitian dilakukan dengan menggunakan tikus Wistar, sehingga hasil yang diperoleh tidak dapat disepadankan dengan manusia.
- b. Jumlah sampel yang digunakan hanya sedikit (4) pada tiap kelompok, sehingga distribusi data tidak normal, dan tidak dapat menggunakan statistik parametrik
- c. Waktu pembentukan aterosklerotik kurang lama sehingga tidak dapat melihat efek mengkudu terhadap lesi aterosklerotik yang lebih lanjut.
- d. Waktu pemberian mengkudu kurang lama, sehingga didapatkan data yang kurang bermakna secara statistik, dan tidak dapat melihat sampai seberapa lama mengkudu berpengaruh terhadap penghambatan lesi aterosklerotik

BAB 7.

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. Kesimpulan

Beberapa kesimpulan yang dapat ditarik dari penelitian ini adalah;

- a. Mengkudu berpengaruh dalam menurunkan kadar kolesterol LDL dan trigliserid serum, dan dapat meningkatkan kadar HDL, serta dapat menghambat perkembangan jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus, sehingga dapat dipertimbangkan sebagai suplemen dalam menghambat lesi aterosklerotik
- b. Terdapat perbedaan yang tidak bermakna secara statistik pada profil lipid, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus Wistar pada pemberian ekstrak mengkudu dengan jangka waktu berbeda. Namun terdapat kecenderungan menurun antara waktu pemberian mengkudu 6 minggu dibanding 3 minggu, sehingga diperlukan waktu yang lebih lama dalam mengkonsumsi mengkudu untuk menghambat lesi aterosklerotik..
- c. Terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik pada kadar kolesterol total, LDL dan HDL pada kelompok yang diberi mengkudu dengan kuning telur yang masih diberikan dibanding dengan kelompok yang tidak mendapat kuning telur lagi, serta terdapat kecenderungan menurun meskipun tidak didapatkan perbedaan bermakna secara statistik terhadap jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta pada pembandingan kelompok tersebut. Oleh karena itu untuk menurunkan kadar kolesterol total dan LDL, serta memperbaiki lesi aterosklerotik lebih optimal bila disertai penghentian diit kuning telur.

7.2. Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjut dengan memperpanjang masa perlakuan diit kuning telur, sehingga didapatkan lesi aterosklerotik yang lebih lanjut, untuk lebih mengetahui pengaruh mengkudu terhadap lesi tipe tersebut. Disamping itu perlu penambahan waktu pemberian mengkudu sampai terjadi penurunan profil lipid plasma yang mencapai kondisi normal, serta sampai hilangnya lesi aterosklerotik.

Perlu pula dilakukan penelitian lanjutan untuk melihat seberapa besar kandungan L-arginin, vitamin C, maupun β -caroten pada mengkudu, dan NO yang dihasilkannya serta dosis efektif mengkudu dalam menghambat lesi aterosklerotik, dan toksisitasnya terhadap berbagai organ.

DAFTAR PUSTAKA

1. MN.Bustan.DR, Epidemiologi Penyakit Tidak Menular, PT Rineka Cipta. Jakarta. Juli 1997 : 21-49
2. Ellya Novia L., Penyakit jantung koroner pada anak dan pencegahannya. Medika Online, <http://www.tempointeraktif.com/medika/arsip/022001/index-isi.asp?file=pus-3>
3. Molecular medicine and atherosclerosis. In : <http://grants.nih.gov/grants/guide/rta-files/RFA-HL-00-015.html>. July 2000
4. Waspodo I, Mengkudu : Noni Jelek Berkhasiat Obat <http://www.jusmengkudu.com/khasiat.html>, jan 1998
5. All about Noni. In : <http://www.noniautentico.com/english.htm>. 2000
6. The Juice of Noni. In <http://www.angelfire.com/biss/farboca/eljugohtml.2000>
7. Solomon N. Noni juice the tropical fruit with 101 medical uses. Noni juice – overview of clinical trials. In : <http://nonimio.8K.com>.1999
8. Underwood, JCE. Sistem kardiovaskuler. Dalam : Patologi Umum dan sistematik . Edisi bahasa Indonesia. Ed: Sarjadi. EGC. Jakarta. 2000; 323-78
9. Constantinides, P. The commonest causes of anoxic necrosis. Dalam : General Pathobiology. Norwalk Connecticut : Appleton & Lange. 1994; 59-116
10. Taylor, John M, Fan, Jianglin. Transgenic rabbit models for study of atherosclerosis. [http://www.bioscience.org/Fortiers in Bioscience 2, d298- 308, June 15,1997.htm](http://www.bioscience.org/Fortiers%20in%20Bioscience%202,%20d298-308,%20June%2015,%201997.htm)
11. Fazio S., MacRae F.Linton. Mouse models of hyperlipidemia and atherosclerosis. Frontiers in Bioscience 6, d515-25, March 1, 2001
12. Shih, DM, Melch.C, Lusi,AJ, New insights into atherosclerosis from studies with mouse model. Mol-Med-Today. 1995 Nov; 1(8):364-72
13. Kumar V MD, Cotran R MD, Robbins ZL MD, Basic Pathology, MB Saunders Co. Philadelphia. 1997; 282-92
14. Moh.Julwan P, Disfungsi endotel dan aterosklerosis koroner. [http:// www.interna.fk.ui.ac.id/referensi/tinpus/009tp.htm](http://www.interna.fk.ui.ac.id/referensi/tinpus/009tp.htm)
15. Prasetyo A, Udadi S, Ika,PM, Profil lipid dan ketebalan dinding arteri abdominalis tikus wistar pada injeksi inisial adrenalin bitatras intra vena dan diet kuning telur intermitten. Penelitian pendahuluan. Dalam : Media Medika Indonesia. Vol 35 No. 3. 2000; 149-57

16. Prasetyo A. Pengaruh injeksi inisial adrenalin dan diet kuning telur terhadap kadar lipid dan kejadian lesi aterosklerotik pada dinding aorta abdominalis tikus wistar. Tesis. Semarang. 2000
17. Everson SA, Lynch JW, Chesney MA, Kaplan GA, Golberg DE, Shade SB et al. Interaction of workplace demands and cardiovascular reactivity in progression of carotid atherosclerosis : population based study. From //localhost/A:/bmi com Everson et al 314(7080)553.htm, 1997
18. Freestone,T, Turner, RJ., Higman,DJ., Lever,MJ., Powell,JT., Influence of hypercholesterolemia and adventitial inflammation on the development of aortic aneurysm in rabbits. Dalam Arteriosclerosis trombosis and vascular biology. 1997;17:10-7
19. Dripa Sjabana, Ramadhani Rusli B, Mengkudu. Salemba Medika, Jakarta, 2002
20. Hirazumi ,A.,Furusawa,E. An immunomodulatory polysaccharide-rich substance from the fruit juice of Morinda citrifolia (noni) with anti-tumor activity. Phytother Res,1999;13(5):380-7
21. Sloop GD., Kevin JW., Ira Tabas, Peter LW., Marti RB. Atherosclerosis-an inflammatory disease. The New England Journal of Medicine. June 17. 1999; Volume 340. Number 24: 1928-9
22. Napoli C., Francesco PD., Francesco PM., Alfredo P., Joseph LM., Giuseppe P., Wulf P. Fatty streak formation occurs in human fetal aortas and is greatly enhanced by maternal hypercholesterolemia. Intimal accumulation of low density lipoprotein and its oxidation precede monocyte recruitment into early atherosclerotic lesions. J.Clin.Invezt. Volume 100, number 11, December 1997; 2680-90
23. Stary H.C, Chandler AB, Dismore RE, Fuster V, Glagov S, Insull W et al A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. A report from the committee on vascular lesions of the council on atherosclerosis. American Heart Association.<http://www.americanheart.org/Scientific/statements/994/059401/html>
24. Stary H.C, Chandler AB, Dismore RE, Fuster V, Glagov S, Insull W et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and histological classification of atherosclerosis. American Heart Assosiation. Arterioscler Thromb Vasc Biol.1995;15: 1512-31
25. Ross Russel. Atherosclerosis-an inflammatory disease. The New England Journal of Medicine. January 14.1999; Volume 340. Number 2 : 115-26

26. Tuveri M, Pathophysiological aspect of vascular disease, role of hemodynamic factors. Biomedical application group. MTDST 1999. September 2; 18:51:14
27. Potnios AV., Severina D'Mello. Essential hypertension-A review. <http://www.bhj.org/journal/1996/3801jan/reviews127.htm>
28. Thomas G. DeLoughery, Atherosclerosis. In : <http://www.ohsu.edu/somhemonc/handouts/deloughery/aterosc.shtml>. March 15, 1999
29. Toumlehto, J.M.D, Diabetes as a risk factor for cardiovascular disease. In <http://plaza.umin.ac.JP/~cire/con/64-12html>
30. Steinberg D. Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. JBC Online. August 22 1997; Volume 272 Number 34:20963-6
31. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwel VC. Biokimia Harper. Edisi bahasa Indonesia. Ed Hartono A. EGC. Jakarta. 1995
32. Parums DV, The pathobiology of atherosclerosis. http://club-03.narod.ru/oxford/pathob_ather.htm. 1990
33. Schwenke, DC., TE Carew. Initiation of atherosclerotic lesions in cholesterol-fed rabbit. I. Focal increase in arterial LDL concentration precede development of fatty streak lesions. Arteriosclerosis. Vol 9. 1989; 895-907
34. Debake ME, Glaser DG. Pattern of atherosclerosis and their surgical significance. Ann Surg 1985; 201:115-31
35. Araim O, Chen AH, Sumpio B. Hemodynamic forces: effect on atherosclerosis. <http://www.landesbioscience.com/journal/newsurgery/1.2/sumpio.html>
36. Thermoloss EF. A sweet weight loss supplement beyond ephedra : Bitter Orange (citrus aurantium). Fram : <http://www.dietsexercise.com/Thermoloss-non-ephedra-wight-loss.htm>, 2000
37. Susini C, Lavau M, Herzog J. Adrenaline responsiveness of glucose metabolism in insulin-resistant adipose tissue of rats fed a high-fat diet. From <http://www.biochemj.org/bj/180/bj1800431.htm>, 1979
38. De Meyer GRY, Herman AG. Vascular endothelial dysfunction. Prog Cardiovasc Dis, 1997; 39:325-42
39. Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction and atherosclerosis. Eur Heart J 1997; 18 Suppl E : E 19-29
40. Carr C Sandra, Vasana Cheanvechai. Histology and clinical significance of the carotid

- atherosclerotic plaque : Implications for endovascular treatment. *Journal of Endovascular Therapy*. Vol 4, No.4,p.321-5
41. Aikawa M,M.MD,Ph.D. Lipid lowering as anti-inflammatory therapy on vulnerable atherosclerotic plaque.Webmaster@j-circ.or.jp.1999
 42. Celermajer DS. Endothelial dysfunction : does it matter? Is it reversible ? *J Am Coll Cardiol* 1997;30:325-33
 43. Vogel RA,Corretti MC, Gellman J. Cholesterol, cholesterol lowering, and endothelial function. *Prog Cardiovasc Dis* 1998;41:117-36
 44. Boger RH, Bode-Boger SM, Brandes RP. Dietary L-arginine reduce the progression of atherosclerosis in cholesterol fed rabbits : comparison with lovastatin. *Circulation* 1997; 96: 1282-90
 45. Maher TJ. L-arginine. Modul by Massachusetts Collage of Pharmacy and Health Science. Feb 2000
 46. Pincemail J. Free radicals and antioxidants in human diseases. In: Analisis of free radicals in biological systems, Basel,Boston-Berlin; 1995:83-98
 47. Hodis HN, Mack WJ, La Brell L. Serial coronary angiographic evidence that antioxidant vitamin intake reduce progression of coronary artery atherosclerosis. *JAMA* 1995; 273: 1849-54
 48. D'Odorico A, Martines D, Kiechl S. High plasma levels of alpha- and beta carotene are associated with a lower risk of atherosclerosis: result from the Bruneck Study. *Atherosclerosis* 2000; 153: 231-9
 49. Antioxidant versus lipid-altering therapy- Some answer, more question. *The New England Journal of Medicine*. Vol 345, 2001;1636-7
 50. Brown BG, Zhao X-Q, Chait A, et.A. Simvastatin, and niacin, antioxidant vitamins, or the combination for the prevention of coronary disease. *N Engl J Med* 2001;345:1583-92
 51. Dinsmoor RZ, Nitric Oxide, Feb 2000. <http://dzm.softstone.net/article.cfm?aid=16&zid=6>
 52. Henahan S. Just say NO.Nitric oxide. <http://www.accssexcellence.org/WN/SUAH/no109/html>
 53. Maxwell AJ. Mechanisms of dysfunction of nitric oxide pathway in vascular diseases. *Nitric Oxide*. <http://www.idealibrary.com/links/dol/10.1006/niox.2001.0394>

54. Mendelsohn ME, Karas RH. The protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *N Engl J Med* 1999;340:1801-11
55. Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD, Meredith IT, Knab S, Delagrange D, et al. Close relation of endothelial function in human coronary and peripheral circulations. *J Am Coll Cardiol* 1995;26:1235-41
56. Ruschitzka FT, Noll G, Luscher TF. The endothelium in coronary artery disease. *Cardiology* 1997;88 (suppl3):3-19
57. Dokter, Tabib, Asma, Kanker, Alternatif. Mengkudu. [http:// www.dokter dan tabib.com/mengkudu/ artekel.mm.2000](http://www.dokterdan tabib.com/mengkudu/artekel.mm.2000)
58. Noni (*morinda citrifolia*). <http://www.universal-tao.com/article/noni.html>. 1998
59. Hirazumi A, Furusawa, E. Anticancer activity of *Morinda citrifolia* (noni) on intraperitoneally implanted Lewis lung carcinoma in syngenic mice. *Proc. West. Pharmacol. Soc.* 1994;37:145-6
60. Hamilton, W, PD, Kirchain, W, R, Noni juice. *Pharmacist*. [http://www.uspharmacist.com /NewLook/DisplayArticle.cim/hem_num_460](http://www.uspharmacist.com/NewLook/DisplayArticle.cim/hem_num_460). 1999
61. Ginsberg, Increases in dietary cholesterol are associate with modest increase in both LDL and HDL cholesterol in healthy young men, *Arterioscler. Thromb Vasc Biol*, 1995, 15 : 169 – 178.
62. Vaouristo, Miettinen, Absorption, metabolism and serum concentrations of cholesterol in vegetarians: effects of cholesterol feeding – *Am J. Clin. Nutr* 1994, 59 : 1325 – 1331.
63. Mc Kenney JM, Mc Cormiek LS, Weiss, Koren M, Kafonek S, Black DM; A randomized trial of the effects of atorvastatin a niacin in patients with combined hyperlipidemia isolated hypertriglyceridemia. Collaborative Atorvastatin Study Group. *Am. J. Med*; Richmond, United States, Feb 1998, 104 (2) p 137 – 43.
64. Adler AJ, Holub BJ; Effect of garlic and fish-oil supplementation on serum lipid and lipoprotein concentrations in hypercholesterolemic men. *Am J. Clin. Nutr*, United States, Feb 1997, 62 (2) p 445 – 50
65. Ginsberg; A dose-response study of the effect of dietary cholesterol on fasting and postprandial lipid and lipoprotein metabolism in healthy young men. *Arterioscler Thrombosis*, 1994 14 : 576 – 586
66. Aji W, Ravalli S, Szabolcs M, Jiang X-c, Sciacca RR, Eng Scd, et all. L-arginine prevents

- xantoma development and inhibits atherosclerosis in LDL receptor knockout mice. *Circulation* 1997; 95 : 430-7
67. Schnorh, Egg consumption and high-density-lipoprotein cholesterol *J. Intern Med*, 1994, 235 : 249 – 251
 68. Bogle RG, Baydoun AR, Moncada S, Pearson JD, Mann GE. L-arginine transport is increased in macrophages generating nitric oxide. *Biochem J*, 1992; 284 : 15-8
 69. Sato H, Ishii T, Sugita Y, Bannai S. Induction of cationic aminoacid transport by lipopolysaccharide. *Biochim Biophys Acta*, 1991 ; 100:46-52
 70. Jessup W, Mohr D, Giese SP, Dean RT, Stocker R. The participation of nitric oxide in cell free-and its restriction of macrophage mediated oxidation of low-density lipoprotein. *Biochim Biophys Acta*, 1992; 1180:73-82
 71. Yates MT, Lambert LE, Whitten JP, McDonald I, Mano M, Ku G, Mao SJ. A protective role for nitric oxide in the oxidative modification of low-density lipoprotein by mouse macrophages. *FEBS Lett*, 1992; 309:135-8
 72. Stary HC. Proliferation of arterial cells in atherosclerosis. *Adv Exp Med Biol*. 1974;43:59-81
 73. Brown E. Basic concepts in pathology. Toronto. 1998:122-23
 74. Assreuy J, Moncada S. A perfusion system for the long term study of macrophage activation. *Br J Pharmacol* 1992; 107 : 317-21
 75. Suhardjono. Role of infection, inflammations and immune factors in atherosclerosis. Dalam : Naskah Lengkap Atherosclerosis from theory to clinical practice. Badan penerbit Universitas Diponegoro. Semarang. 2003 : 43-51
 76. Libby P. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002;105:1135-43
 77. Ross R, Masuda J, Raines EW, Gown AM, Katsuda S, Sasahara M, et al. Localization of PDGF- β protein in macrophages in all phases of atherogenesis. *Science*. 1990;248:1009-12